

Parrys 1957

SÉRIE A, N° 3149

N° D'ORDRE :

4021

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

JOSEPH BERGERARD

1^{re} THÈSE. — ÉTUDE DE LA PARTHÉNOGÈSE FACULTATIVE DE *Clitumnus extradentatus* BR. (*Phasmodæ*).

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 4 avril 1957 devant la Commission d'examen.

MM. PRENANT.....	Président.
GRASSÉ.....	} Examinateurs.
TEISSIER.....	

PARIS

Editions du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail

1958

SÉRIE A, n° 3149

N° D'ORDRE :

4021

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

JOSEPH BERGERARD

1^{re} THÈSE. — ÉTUDE DE LA PARTHÉNOGÈSE FACULTATIVE DE *Clitumnus extradentatus* Br. (*Phasmidæ*).

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 4 avril 1957 devant la Commission d'examen.

MM. PRENANT.....	Président.
GRASSÉ	} Examinateurs.
TEISSIER.....	

PARIS

Editions du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail

—
1958

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen J. PÉRÈS

PROFESSEURS

G. JULIA.....	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	AUDUBERT	T	Electrochimie.
E. DARMOIS.....	T	Enseignement de Physique.	L'HÉRITIER	T	Génétique.
POCH	T	Mécanique physique et expérimentale.	GRIVET	T	Radioélectricité.
PAUTHENIER	T	Electrotechnique générale	PONCIN	T	Mécanique des fluides.
DE BROGLIE.....	T	Théories physiques.	THIERY	T	Mécanique appliquée.
JOB	T	Chimie générale.	DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.	QUELET	T	Chimie organique.
GARNIER	T	Géométrie supérieure.	CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.
PÉRÈS	T	Mécanique des fluides et applications.	CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire.
LAUGIER	T	Physiologie générale.	CUVILLIER	T	Géologie structurale et Géologie appliquée.
M. CURIE.....	T	Physique (P.C.B.).	JUNG	T	Pétrographie.
BARRABÉ	T	Géologie structurale et Géologie appliquée.	TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique.
G. DARMOIS.....	T	Calcul des probabilités et Physique mathématique	WIEMANN	T	Chimie organ. structurale.
Jacques BOURCART.	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste.
PLANTEFOL	T	Botanique	VASSY		Physique de l'atmosphère
GRASSÉ	T	Évolution des êtres organisés.	DESTOUCHES		Théories physiques.
PRÉVOST	T	Chimie organique.	M. PRUVOST.....	T	Géologie.
BOULIGAND	T	Application de l'analyse à la Géométrie.	AMIEL	T	Chimie (P.C.B.).
CHAUDRON	T	Minéralogie.	HOCART	T	Minéralogie.
WYART	T	Zoologie.	J.-P. MATHIEU...	T	Physique (P.C.B.).
TEISSIER	T	Biologie végétale.	COUTEAUX	T	Biologie animale (P.C.B.).
MANGENOT	T	Physique quantique et relativité.	MAY	T	Biologie animale (P.C.B.).
P. AUGER.....	T	Physiologie des fonctions.	CHOQUET	T	Calcul différentiel et intégral.
MONNIER	T	Géologie.	FELDMANN		Biologie (P.C.B.).
PIVETEAU	T	Physique (E.N.S.).	GUINIER	T	Physique (P.C.B.).
ROCARD	T	Mathématiques (E.N.S.).	JOST	T	Biologie (P.C.B.).
H. CARTAN	T	Chimie générale.	FORTET	T	Calcul des probabilités.
LAFFITTE	T	Mécanique générale.	SCHWARTZ	T	Méthode mathémat. de la Physique.
FAVARD	T	Physique du Globe.	CHOUARD	T	Physiologie végétale.
COULOMB	T	Biologie animale (P.C.B.).	MALAVARD	T	Aviation.
M ^{me} COUSIN.....	T	Chimie minérale.	BRELOT	T	Calcul différentiel.
CURÉTIEN	T	Zoologie.	NORMANT	T	Chimie (P.C.B.).
P. DRACH	T	Physique.	BÉNARD	T	Chimie (P.C.B.).
KASTLER	T	Génétique.	BUVAT	T	Botanique (E.N.S.).
EPHROSSI	T	Biologie physico-chimique.	DUGUÉ	T	Statistiques mathématiques.
WURMSER	T	Géologie (S.P.C.N.).	GELOSÓ		Chimie (S.P.C.N.).
RIVIÈRE	T	Biologie végétale (P.C.B.).	SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
GAUTHERET	T	Recherches physiques.	ULRICH	T	Physiologie végétale.
LUCAS	T	Biologie cellulaire.	MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée.
A. THOMAS	T	Optique appliquée.	KIRRMANN	T	Théories chimiques.
ARNULF	T	Physique.	CHADEFAUD		Botanique.
SOLEILLET	T	Mécanique expérimentale des fluides.	DESTRIAU		Physique (M.P.C.).
FORTIER	T	Astronomie.	M ^{me} LE BRETON...		Physiologie générale.
DANJON	T	Chimie biologique.	SALEM	T	Mathématiques générales.
FROMAGEOT	T	Physique générale et Radio-activité.	LELONG	T	Mathématiques générales
LAPORTE	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.	DEVILLERS		Anatomie et Histologie comparées.
JANET	T	Biologie maritime.	EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
PETIT	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.	FRANÇON		Physique (M.P.C.).
QUENEY	T	Embryologie.	GLANGEAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique.
GALLIEN	T	Biologie végétale (P.C.B.).	GODEMENT	T	Mathématiques (M.P.C.).
EICHORN	T	Biologie végétale (P.C.B.).	PISOT	T	Calcul des probabilités.
DE CUGNAC.....	T	Chimie physique.	E. ROCH		Géologie.
M ^{me} CAUCHOIS.....	T	Physique du Globe.	SCHATZMANN		Astrophysique.
THELLIER	T		TERMIER	T	Paléontologie stratigraphique.
			ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
			LIJOT	T	Physique nucléaire et Radioactivité.

Secrétaire Général CH. MONIER.



ÉTUDE DE LA PARTHÉNOGÈSE FACULTATIVE DE *CLITUMNUS EXTRADENTATUS* BR. (PHASMIDÆ)

(Avec 37 figures et planches I à IV).

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	89
CHAPITRE PREMIER. — HISTORIQUE	90
I. — La parthénogenèse des Phasmides	90
A. — Caractères généraux	90
B. — Cytologie :	
1) Polyploïdie et parthénogenèse	92
2) Mécanisme cytologique de la parthénogenèse	94
II. — La parthénogenèse des Orthoptéroïdes	96
A. — Cas de parthénogenèse régulière	96
B. — Cas de parthénogenèse accidentelle	97
CHAPITRE II. — CARACTÈRES GÉNÉRAUX DE LA PARTHÉNOGÈSE DE <i>CLITUMNUS</i> <i>EXTRADENTATUS</i> BR.	101
I. — Conditions de l'élevage	102
II. — Caractéristiques biologiques de la parthénogenèse	103
A. — Durée du développement embryonnaire	103
B. — Sexe des descendants	105
C. — Fécondité des femelles vierges	108
D. — Pourcentage d'éclosion des œufs vierges	113
1) Œufs des femelles parthénogénétiques de deuxième génération	115
2) Œufs des femelles parthénogénétiques de troisième génération et au-delà	117
3) Mode d'action des gènes léthaux	118
E. — Caractères morphologiques des individus issus de la par- thénogenèse	120
F. — Principales caractéristiques des différentes souches uti- lisées	121

	Pages
CHAPITRE III. — ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE COMPARÉ DES OEUFS FÉCONDÉS ET DES OEUFS VIERGES	126
I. — Développement des œufs fécondés	126
II. — Développement des œufs vierges présentant un retard normal à l'éclosion	132
III. — Développement des œufs vierges de la souche N ₄	136
CHAPITRE IV. — ÉTUDE CYTOLOGIQUE DE LA PARTHENOGENÈSE	141
I. — Garniture chromosomique de l'espèce.	143
II. — Méthodes utilisées pour l'étude de la régulation.	147
1) Préparations par écrasement	147
2) Méthode histophotométrique	149
III. — Étude de la régulation chromosomique dans la souche N ₄	152
A. — Établissement de l'haploïdie initiale	152
B. — Apparition de mitoses bloquées	156
C. — Le phénomène de diploïdisation	161
D. — Mécanisme cytologique de la régulation.	162
IV. — Étude de la régulation chromosomique dans les autres souches.	165
CHAPITRE V. — DÉVELOPPEMENT DES OEUFS A 18°. POSSIBILITÉ D'OBTENIR DES EMBRYONS POLYPOIDES	169
I. — Développement des œufs fécondés	169
I II. — Développement des œufs parthénogénétiques	172
CONCLUSION	174
RÉSUMÉ	176

AVANT-PROPOS

C'est auprès de M. Robert Lévy, Directeur du Laboratoire de Zoologie de l'École Normale Supérieure que j'ai acquis, à titre d'élève, puis d'Agrégé-préparateur, le goût de la recherche biologique. Je tiens, au seuil de cet exposé, à évoquer sa mémoire avec reconnaissance.

Le sujet de cette thèse m'a été proposé par M. le Professeur G. TEISSIER, qui a bien voulu m'appeler à remplir auprès de lui les fonctions d'Assistant, puis de Chef de Travaux. Pour cette marque d'estime et pour la façon dont il a toujours suivi et facilité mon travail, il m'est agréable de lui adresser ici le témoignage de ma respectueuse affection.

Je suis heureux de pouvoir exprimer ma reconnaissance à M. le Professeur GRASSÉ, qui a bien voulu s'intéresser à mes travaux et me donner des conseils particulièrement précieux, ainsi qu'à M. le Professeur PRENANT, qui m'a toujours marqué la plus grande bienveillance.

Je remercie M. L. CHOPARD, professeur au Muséum d'Histoire Naturelle, à qui je dois la détermination de l'espèce sur laquelle j'ai travaillé, et de nombreux renseignements sur les Phasmides.

Je tiens aussi à remercier M. le Professeur DALCO pour l'accueil qu'il m'a réservé dans son Laboratoire de la Faculté de Médecine de l'Université de Bruxelles, ainsi que MM. les Professeurs PASTEELS et LISON qui ont bien voulu m'initier aux méthodes de l'histophotométrie.

J'ai effectué mes recherches aux Laboratoires de Zoologie de la Sorbonne et de Génétique Évolutive du C. N. R. S., à Gif-sur-Yvette, dans une atmosphère scientifique dont je remercie M. le Professeur DRACH et mes camarades et amis des deux laboratoires.

Enfin, je tiens à remercier M^{lle} J. BIGLER qui m'a apporté dans la partie matérielle de ce travail à laquelle je n'aurais pu suffire, un concours très efficace. Je remercie aussi le personnel des deux Laboratoires pour la gentillesse avec laquelle tous ont facilité mon travail.

INTRODUCTION

Les Phasmides présentent un intérêt tout particulier en ce qui concerne les phénomènes de parthénogénèse. On y rencontre, en effet, des espèces à parthénogénèse constante, d'autres à parthénogénèse facultative et d'autres enfin où ce phénomène est plutôt de type accidentel. Il semble, d'autre part, comme nous le verrons au cours du chapitre premier, qu'il n'existe aucune limite nette entre ces différents types. Il est donc tentant de s'adresser à ce groupe pour étudier les modalités de l'isolement de races ou d'espèces parthénogénétiques. Une telle étude demande, naturellement, la connaissance préalable du mécanisme cytologique de la parthénogénèse.

Or, nous savons que ce mécanisme, dont le résultat est toujours de maintenir au cours des générations successives le nombre $2n$ de chromosomes, se présente d'une manière très variée dans l'ensemble du règne animal. La plupart du temps, il y a suppression, avec des variations de détail, de l'une des deux divisions de maturation de l'œuf. Dans d'autres cas, cependant, les phénomènes de réduction chromatique restent inchangés, mais il intervient un redoublement du nombre des chromosomes qui peut précéder les divisions de maturation (OMODEO, 1952) ou se produire postérieurement, lors des premières divisions de segmentation de l'œuf. Le cas le mieux étudié de ce dernier type est celui de *Solenobia triquetrella* (SEILER et SCHAEFFER, 1938, 1941). C'est aussi, probablement, le mode le plus général de régulation chromosomique dans les cas de parthénogénèse artificielle.

Chez les Phasmides, ce mécanisme cytologique est assez mal connu. En effet, les auteurs des revues les plus récentes estiment que les travaux déjà réalisés sur ce sujet sont incomplets (WHITE, 1951), ou même que certaines des figures publiées sont susceptibles d'une interprétation différente (MATTHEY, 1945). Il m'a donc paru intéressant de reprendre cette étude sur une espèce à parthénogénèse facultative, où je pourrais à chaque stade comparer le développement de l'œuf vierge à celui de l'œuf fécondé. Avant d'aborder l'exposé de ce travail, je m'efforcerai cependant de dégager plus précisément l'état de nos connaissances sur la parthénogénèse des Phasmides. Les travaux consacrés à ce sujet sont très nombreux et bien qu'ils soient le plus souvent incomplets, ils nous fourniront de précieux éléments de discussion. C'est pour la même raison que nous serons amenés à examiner, à titre de comparaison, les principaux faits connus sur la parthénogénèse chez les autres Orthoptéroïdes.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

I. — La parthénogenèse des Phasmides.

A. — CARACTÈRES GÉNÉRAUX

VON WUELFING a établi rigoureusement en 1897 l'existence de la parthénogenèse chez le grand Phasme javanais *Eurycnema herculeanus* (cité par VANDEL, 1931), dont HANISTCH (1902) a obtenu deux générations parthénogénétiques successives.

Il existe, à la même époque, un grand nombre d'observations. En France, *Clonopsis gallica* n'est représenté que par des femelles et DOMINIQUE (1896-1897, 1899) établit par élevage l'existence de la parthénogenèse. On ne signale dans la littérature qu'un seul mâle de cette espèce, trouvé en France dans le Var (BÉRENGUIER, 1909, discuté par CHOPARD, 1920) et quelques intersexués. Cependant, il existe en Algérie une espèce voisine, *Clonopsis algerica*, dont les mâles sont aussi fréquents que les femelles (CHOPARD, 1943) et qui semble bien constituer une simple variété de la première espèce. Il est donc possible que nous ayons affaire à deux races d'une même espèce, l'une à parthénogenèse thélytoque indéfinie habitant la France, l'autre bisexuée normale habitant l'Algérie; ce serait alors un cas typique de parthénogenèse géographique. Il est à noter que, dans ce cas, on n'a pas tenté le croisement de la femelle de race parthénogénétique française par le mâle algérien.

Mais une autre espèce française, *Bacillus rossii*, présente des caractéristiques assez voisines. Elle habite elle aussi la France et l'Afrique du Nord. En France (CHOPARD, 1951) les mâles sont assez rares ou même très rares, sauf en certaines localités; par contre ils semblent assez abondants en Afrique du Nord (CHOPARD, 1943). De plus, on a pu réaliser le croisement entre des femelles de la race française parthénogénétique et des mâles algériens (FAVRELLE et DE VICHET, 1937, 1948). La fécondation se fait alors normalement et l'on obtient dans la descendance 50 o/o de mâles et 50 o/o de femelles.

D'après les quelques exemples que nous venons de citer, la parthénogenèse de certains Phasmides présente donc des caractères extrêmement intéressants. D'une part, elle est facultative : chez *Eurycnema* comme chez *Bacillus rossii* les femelles peuvent ou non être fécondées. Après fécondation, leur descendance comporte moitié mâles et moitié femelles. Au contraire, les œufs vierges pondus par des femelles non fécondées donnent uniquement des femelles. De plus, cette parthénogenèse facultative semble avoir conduit, au cours de l'évolution, à la ségrégation de races géographiques très peu différentes, ou sensiblement différentes entre elles au point de vue morphologique, comme nous le montrent *Bacillus rossii* et *Clonopsis gallica*. C'est à cause de ce caractère de la parthénogenèse facultative des Phasmides, qui peut conduire à

la ségrégation de races géographiques, que les études se sont multipliées.

Il serait inutile de citer tous les travaux qui se bornent à signaler la parthénogenèse facultative de différentes espèces (VANDEL, 1931). Le mérite d'une étude plus poussée, portant sur un grand nombre d'espèces, revient à CAPPE DE BAILLON, FAVRELLE et DE VICHET (CAPPE DE BAILLON, FAVRELLE et DE VICHET, 1934-1938; CAPPE DE BAILLON et DE VICHET, 1940) qui se sont surtout attachés au problème de l'espèce, extrêmement compliqué dans le cas de ces organismes, qui ont en quelque sorte la possibilité de créer à tout moment de leur histoire évolutive des races parthénogénétiques pouvant subir un isolement géographique.

Ces auteurs classent les espèces étudiées en deux catégories :

1. Des espèces à parthénogenèse thélytoque indéfinie, où l'on ne connaît que des femelles. Le type en serait par exemple *Clonopsis gallica* ou *Carausius morosus*, ainsi que d'autres espèces du genre *Carausius*. Les auteurs ont étudié sept espèces de ce type.

2. Des espèces à parthénogenèse accidentelle, normalement bisexuées, mais dont les femelles isolées peuvent pondre des œufs vierges qui se développent alors en donnant exclusivement des femelles.

En se référant aux sept espèces de ce dernier type étudiées par les auteurs, il semblerait y avoir une discontinuité assez nette entre les deux groupes : le taux d'éclosion des œufs non fécondés, qui se situe aux environs de 80 à 90 o/o dans le premier cas, varie dans le deuxième entre 4 et 44 o/o. De plus, les rares mâles qui apparaissent au cours de la parthénogenèse sont, dans le cas des espèces à parthénogenèse accidentelle, de vrais mâles fonctionnels dont la formule chromosomique comporte un seul hétérochromosome alors que, pour les espèces à parthénogenèse constante, ce ne sont que des femelles plus ou moins masculinisées, incapables de fonctionner comme mâles.

Cependant, ces auteurs admettent que la parthénogenèse constante n'est, probablement, que le résultat de l'isolement fortuit d'une ou de plusieurs femelles d'une espèce bisexuée normale, au cours de l'évolution. Nous avons d'ailleurs en quelque sorte une vérification historique d'une telle interprétation puisque l'on semble bien pouvoir admettre (VANDEL, 1931) que *Carausius morosus* et un certain nombre d'espèces indiennes voisines qui figurent parmi celles qui ont été utilisées par CAPPE DE BAILLON, FAVRELLE et DE VICHET (*C. furcillatus*, *hilaris*...) et sont rangées par ces auteurs dans le groupe des Phasmes à parthénogenèse constante, soient aux Indes, au moins dans certaines régions, des espèces bisexuées ayant une proportion de mâles voisine de 50 o/o.

Pour compléter ce rapide tableau de nos connaissances sur la parthénogenèse des Phasmides, il faut noter que CAPPE DE BAILLON et DE VICHET ont étudié en 1940 deux espèces assez voisines : *Leptynia hispanica* (Espagne, Portugal et littoral méditerranéen de la France) et *Leptynia attenuata* (Espagne et Portugal). La première espèce présente une parthénogenèse constante, la seconde est bisexuée. Il existe entre les femelles de ces deux espèces quelques différences morphologiques. Cependant, les auteurs ont tendance à considérer qu'il s'agit de deux races, l'une parthénogénétique et l'autre bisexuée, d'une même espèce. Nous verrons dans quelques instants, en examinant nos

connaissances sur la cytologie des Phasmides, que la différence des nombres de chromosomes rend le croisement très improbable.

Il se dégage donc de l'ensemble des études réalisées qu'il existe normalement chez les Phasmes une parthénogenèse accidentelle ou facultative qui a pu, dans de nombreux cas, donner naissance à des races parthénogénétiques et l'on semble bien pouvoir trouver chez ces Insectes tous les intermédiaires entre les cas de :

— deux races à peine tranchées dont le croisement est encore possible (*Bacillus rossii*) ;

— deux races plus séparées et en particulier morphologiquement reconnaissables (*Clonopsis gallica* et *algerica*). Il ne semble pas que l'on ait ici tenté le croisement ;

— deux races franchement séparées (*Leptynia hispanica* et *attenuata*).

Il était donc tentant de reprendre cette étude sur un cas particulier en essayant de comprendre, à l'aide d'un matériel favorable, comment peut s'établir dans la nature une parthénogenèse géographique.

Mais il est un problème extrêmement important dans l'étude de toute parthénogenèse, que nous n'avons pas abordé jusqu'ici, c'est celui des mécanismes cytologiques et des conditions chromosomiques que nous allons examiner maintenant.

B. — CYTOLOGIE DE LA PARTHÉNOGÈNESE DES PHASMIDES

On peut distinguer, dans l'étude cytologique de la parthénogenèse deux aspects très différents. D'une part, un grand nombre d'organismes parthénogénétiques sont polyploïdes et c'est en particulier le cas dans les parthénogenèses géographiques les mieux étudiées (VANDEL, 1928, 1946 ; SEILER, 1948). C'est la première question que nous envisagerons. Il faut considérer, d'autre part, le mécanisme cytologique qui permet à chaque génération parthénogénétique de conserver le nombre de chromosomes de l'espèce en empêchant la réduction chromatique ou en neutralisant ses effets.

1. — Polyploïdie et parthénogenèse chez les Phasmes.

On peut dire que le lien entre parthénogenèse et polyploïdie chez les Phasmes ne ressort pas clairement des différents travaux dont nous disposons. Je reproduis ici le tableau dressé par WHITE (1954) (tableau I).

Ce tableau appelle un certain nombre de remarques. D'abord le nombre de chromosomes des différentes espèces bisexuées est loin d'être homogène puisque, dans les seize espèces mentionnées, il varie de $2n = 22$ à $2n = 48$, avec toutefois une assez forte prédominance du nombre 36. Ce fait particulier va nous empêcher de conclure, d'une manière générale pour le groupe, et nous contraindre à ne considérer que les groupes d'espèces bisexuées et parthénogénétiques relativement voisines au point de vue systématique. Encore

faudra-t-il se défier des conclusions trop rapides ; les espèces bisexuées de la famille des *Pseudophasmatidæ* ayant, par exemple, des nombres de chromosomes de 24, 28, 34 et 48.

TABLEAU I

*Exemples de nombres chromosomiques
chez les Phasmides bisexués (B) et parthénogénétiques (P).*

Données de DE SINÉTY (1901), CAPPE DE BAILLON, FAVRELLE et DE VICHET (1934, 1935, 1937, 1938), CAPPE DE BAILLON et DE VICHET (1940) et HUGHES-SCHRADER (1947) (tiré de WHITE, 1954).

	Famille	Nombre somatique de la femelle (observé ou calculé d'après le nombre du mâle)
BACILLIDÆ :		
	<i>Phalces longiscaphus</i> (B)	36
	<i>Bacillus rossii</i> (P)	36
	<i>Leptynia attenuata</i> (B)	36
	<i>Leptynia hispanica</i> (P)	52-56 ⁽¹⁾
PSEUDOPHASMATIDÆ :		
	<i>Isagoras schraderi</i> (B)	34
	<i>Isagoras</i> sp. (B)	48
	<i>Isagoras subaquilus</i> (B)	28
	<i>Pseudophasma menius</i> (B)	24
PHYLLIDÆ :		
	<i>Phyllium bioculatum</i> (B)	34
BACUNCULIDÆ :		
1°	<i>Clitumnini</i>	
	<i>Dubreulia lineata</i> (B)	26
	<i>Phobæticus sinetyi</i> (P)	52
	<i>Baculum artemis</i> (P)	68-76 ⁽¹⁾
2°	<i>Lonchodini</i>	
	<i>Carausius theiseni</i> (P)	40-42 ⁽¹⁾
	<i>C. juvenilis</i> (B)	42
	<i>C. furcillatus</i> , race I (P)	64-73 ⁽¹⁾
	<i>C. furcillatus</i> , race II (P)	85-100 ⁽¹⁾
	<i>C. (Greenia) rotundato-lobatus</i> (B)	22
	<i>Menexenus semiarmatus</i> (B)	46
PHISALOSOMIDÆ :		
	<i>Aplopus mayeri</i> (B)	36
	<i>Bostra</i> sp. (B)	36
HETERONEMIIDÆ :		
	<i>Oncotophasma</i> sp. (B)	42
BACTERIIDÆ :		
	<i>Sipyloidea panæticus</i> (B)	22
	<i>Parasosibia parva</i> (B)	54

(1) Nombre exact non déterminé, peut-être non constant.

Nous pouvons cependant noter que les nombres correspondant aux espèces parthénogénétiques présentent deux caractéristiques intéressantes :

1° Ils sont relativement variables, ce qui est assez logique si l'on admet qu'ils puissent échapper, du fait même de la parthénogenèse, au contrôle rigoureux du nombre de chromosomes qu'assurent, pour les organismes bisexués, la réduction chromatique et la fécondation ;

2° Ils sont en moyenne plus élevés que les nombres chromosomiques des espèces bisexuées.

Ceci permet de penser qu'au moins dans quelques cas, la parthénogenèse s'accompagne de polyploidie. Bien entendu, il n'en est pas toujours ainsi. Dans les cas de parthénogenèse restant facultative, bien que constante dans une aire géographique particulière, le nombre de chromosomes est le même dans les deux races, ainsi chez *Bacillus rossii* (36 chromosomes). Mais dans d'autres cas, par exemple celui du groupe des deux espèces *Leptynia attenuata* (bisexuée, 36 chromosomes) et *L. hispanica* (parthénogénétique, 52 à 56 chromosomes), il semble bien que l'espèce parthénogénétique soit polyploïde (ici $3n$) par rapport à l'espèce bisexuée. Dans le genre *Carausius*, on peut trouver suivant ce schéma une espèce bisexuée (*juvenilis*) à 42 chromosomes, une espèce parthénogénétique diploïde (*theisenti*) ayant 40 à 42 chromosomes et une espèce parthénogénétique polyploïde (*furcillatus*) présentant deux races dont la première (64 à 73 chromosomes) serait approximativement triploïde ($3n = 63$) et la deuxième approximativement tétraploïde (85 à 100 chromosomes, $4n = 84$). Les renseignements que l'on trouve dans la littérature sur le *Carausius morosus* communément élevé dans les laboratoires, sont assez contradictoires et ne permettent pas de décider s'il s'agit d'une espèce diploïde ou triploïde et il est possible qu'il existe ici deux races différentes.

Il semble donc que, chez les Phasmides, la parthénogenèse soit assez souvent liée à la polyploidie, mais ce fait ne constitue ni probablement le principe même de l'établissement de la parthénogenèse géographique, ni une règle constante.

Nous allons retrouver dans l'exposé de la deuxième question cytologique que pose la parthénogenèse, une diversité analogue qui rend trop hâtive toute tentative de schéma général s'appliquant à l'ensemble du groupe.

2. — Mécanisme cytologique de la parthénogenèse des Phasmides.

On peut citer ici un certain nombre de travaux dont les plus importants sont ceux de PEHANI (1925) sur *Carausius morosus* et de VON BAEHR (1907) sur *Bacillus rossii*. Pour *C. morosus*, le mécanisme cytologique n'apparaît pas clairement. PEHANI (1925) a montré qu'il existe deux divisions méiotiques, avec, au cours de la première division, appariement des chromosomes et apparemment formation de chiasma. Ce qui fait dire à WHITE (1951) que la parthénogenèse de *C. morosus* est de type méiotique, la réduction chromatique devant se trouver réalisée. D'autre part, CAPPE DE BAILLON (1940)

écrit que les divisions de maturation comportent 20 à 22 chromosomes et montre qu'il ne saurait être question de fusion du noyau de l'ovule avec l'un des globules polaires, ceux-ci dégénéral dans le cytoplasme de l'œuf à l'endroit même de leur formation, alors que le noyau de l'ovule migre sur l'autre face. Pourtant, suivant cet auteur, dès la première division de segmentation, il existe de 38 à 46 chromosomes dans la plaque équatoriale, mais « il est difficile de dire par quel moyen » s'est effectuée la régulation. On peut donc conclure avec WHITE (1951) que l'on ne sait pas comment se restaure le nombre chromosomique.

Chez *Bacillus rossii*, VON BAEHR (1937) a vu l'émission des deux globules polaires, mais il est bon de rappeler qu'il s'agit ici d'une parthénogenèse facultative, alors que *Carausius morosus* présente une parthénogenèse constante. MATTHEY (1945) a repris l'interprétation des différents faits signalés par les auteurs et distingue très nettement entre les deux cas. Chez *Bacillus rossii*, il y aurait réduction chromatique, puis probablement redoublement du nombre des chromosomes par fusion des noyaux au cours des premières divisions de segmentation. Chez *Carausius morosus*, MATTHEY reprend l'interprétation des figures de PEHANI et conclut qu'il existe de grandes analogies avec les mécanismes cytologiques de la parthénogenèse de *Pycnoscelus surinamensis* (Blattidæ) qu'il étudie. Dans ce cas après le stade pachytène de la première division méiotique, il y a déconjugaison complète des homologues (endoméiose). Le grand accroissement de l'ovule se fait avec le nombre diploïde de chromosomes et les deux divisions de maturation, qui interviennent ensuite et aboutissent à l'expulsion de deux globules polaires, sont toutes deux diploïdes.

Pour être complet, il faut citer le cas de *Menexenus semiarmatus* signalé par CAPPE DE BAILLON, FAVRELLE et DE VICHET (1935). Ici, on ne possède pas d'étude de la maturation de l'œuf ni de sa segmentation, mais les auteurs ont constaté qu'au stade de formation des cellules nerveuses embryonnaires à partir des neuroblastes, les divisions actives de ces neuroblastes révèlent que certains sont haploïdes, d'autres diploïdes et même certains polyploïdes. Il est à noter que ce fait plaide en faveur d'une régulation tardive du nombre des chromosomes, assurée, par exemple, par une fusion des noyaux se produisant de façon irrégulière au cours de la segmentation. Notons encore que *M. semiarmatus* est une espèce bisexuée manifestant une parthénogenèse accidentelle, avec un nombre d'éclosions relativement faible (environ 4 o/o des œufs vierges observés).

On en vient donc à la conclusion que le mécanisme cytologique de la parthénogenèse chez les Phasmides est assez mal connu et mérite des études nouvelles. Ces études pourront d'ailleurs ne pas porter uniquement sur les divisions de maturation, les textes déjà cités (PEHANI, MATTHEY) prouvant que l'interprétation des figures obtenues dans ce cas est très délicate. Mais avant de passer à l'étude qui fait l'objet de ce mémoire, il est bon de replacer la parthénogenèse des Phasmides dans le cadre plus général de la parthénogenèse des Orthoptéroïdes.

II. — La parthénogenèse des Orthoptéroïdes.

On trouve dans la littérature un grand nombre de cas de parthénogenèse signalés chez les Orthoptéroïdes. Nous prendrons successivement les cas de parthénogenèse régulière et ceux de parthénogenèse accidentelle.

A. — CAS DE PARTHÉNOGÉNÈSE RÉGULIÈRE

Les cas signalés de parthénogenèse régulière sont très rares. Ils se réduisent, chez les Blattes, à celui de *Pycnoscelus surinamensis* étudié par MATTHEY (1945), chez les Mantes, à celui de *Brunneria borealis* (WHITE, 1948), chez les Sauterelles, à celui de *Saga pedo* (MATTHEY, 1941, 1946, 1948, 1950) et chez les Grillons au cas de *Myrmecophila acevorum* (SCHIMMER, 1919). Nous les examinerons successivement en réservant pour la fin ceux de *Pycnoscelus surinamensis* et de *Saga pedo*, sur lesquels nos informations cytologiques sont beaucoup plus complètes.

Chez *Myrmecophila acevorum*, il existe une parthénogenèse régulière thélytoque (mâles très rares), l'animal vit en commensal dans les nids de Fourmis (Europe méridionale). On ne possède pas d'étude cytologique; de nombreuses autres espèces du genre sont bisexuées et à proportion des sexes normales; la parthénogenèse est donc probablement de type géographique.

Chez *Brunneria borealis* qui habite le sud des Etats-Unis, les divisions de maturation de l'œuf ne sont pas connues, si bien que l'on ne sait pas s'il se produit effectivement une méiose. L'espèce est diploïde, car le nombre des chromosomes (28) n'est pas plus élevé que dans les formes voisines; de plus, il existe une paire de chromosomes métacentriques manifestement à l'état diploïde.

Prenons maintenant les cas cytologiquement bien connus :

Chez la Blatte *Pycnoscelus surinamensis*, il existe deux races, l'une bisexuée, en Indo-Malaisie (habitat primitif) et dans toutes les zones tropicales et équatoriales du globe où elle s'est répandue, l'autre parthénogénétique en Europe et en Amérique du Nord où elle vit dans les serres chaudes. Le nombre de chromosomes de la femelle est de 38 et dans la race parthénogénétique les deux divisions de maturation sont de type mitotique; il n'y a donc pas de réduction chromatique. Cependant, les chromosomes s'apparient au stade zygotène, mais ils se séparent bientôt et il ne se forme aucun chiasma. Il est apparu dans les élevages (MATTHEY, 1945) un seul mâle qui était de type XO (37 chromosomes) et sa méiose était entièrement normale avec 18 bivalents autosomaux. On sait, après l'étude de la race bisexuée faite par MATTHEY (1948), que la race parthénogénétique est diploïde.

Chez le Tettigionide *Saga pedo*, dont la distribution géographique s'étend de l'Espagne à la Russie méridionale en passant par la France méridionale, l'Italie, la Suisse, l'Autriche et les Balkans, on ne trouve jamais que des femelles, la reproduction est entièrement parthénogénétique. Il existe deux rapports douteux de mâles supposés dans la littérature ancienne (WHITE,

1951). C'est une espèce rare qui existe en petites colonies isolées. On connaît environ 15 autres espèces du genre *Saga* réparties dans les Balkans, la Turquie, la Palestine, la Transjordanie et la Perse, qui toutes semblent être bisexuées. L'étude cytologique a été faite par MATTHEY (1941, 1946, 1948) en utilisant du matériel de Suisse et du Midi de la France. Le nombre de chromosomes est de 68, dont 12 grands métacentriques et 56 acrocentriques. Lors de la maturation, il n'y a pas d'appariement des chromosomes et seulement une division, simple mitose sans réduction chromatique. Ce nombre chromosomique est beaucoup plus élevé que celui des autres Tettigonides connus et MATTHEY a suggéré (1941) que *Saga pedo* était peut-être un tétraploïde, hypothèse confirmée par la suite par MATTHEY (1946, 1948, 1950) et GOLDSCHMIDT (1946) qui ont étudié le nombre de chromosomes de trois espèces bisexuées du genre *Saga*. Les mâles de *Saga gracilipes* et de *S. cappadocica* ont $2n = 31$ et ceux de *S. ephippigera*, $2n = 33$; dans les trois cas, tous les chromosomes sont acrocentriques, seul le X étant métacentrique. Il se trouve donc que le nombre de chromosomes de *S. pedo* est exactement le double de celui de *S. ephippigera*; il faut pourtant remarquer qu'un ancêtre hypothétique de l'espèce parthénogénétique devrait comporter deux paires d'autosomes métacentriques en plus de l'X (WHITE, 1954).

Le nombre de cas de parthénogenèse régulière connus chez les Orthoptéroïdes est donc très limité, mais dans les deux cas cytologiquement bien étudiés, nous pouvons dire que cette parthénogenèse est de type améiotique. Dans les deux cas, il s'agit d'une parthénogenèse géographique et, chez *Saga pedo*, elle s'accompagne manifestement de la création d'une espèce nouvelle tétraploïde. Chez *Pycnoscelus surinamensis*, il se peut qu'il y ait encore possibilité de croisement entre les femelles de la race parthénogénétique et les mâles de la race bisexuée. On serait alors dans un cas tout à fait analogue à celui de *Bacillus rossii*, chez les Phasmes. On peut donc dire qu'au cours de l'évolution dans trois ordres différents d'Orthoptéroïdes se sont isolées des lignées parthénogénétiques qui semblent à l'heure actuelle plus éloignées de la souche bisexuée originelle dans le cas de *S. pedo* que dans celui de *P. surinamensis*. Nous nous ferons une opinion de la manière dont on peut concevoir l'établissement de telles races ou espèces parthénogénétiques en examinant rapidement les cas connus de parthénogenèse accidentelle chez les Orthoptéroïdes.

B. — CAS DE PARTHÉNOGÉNÈSE ACCIDENTELLE

La parthénogenèse accidentelle est extrêmement répandue chez les Orthoptéroïdes. Les revues les plus récentes sont celles de MATTHEY (1945), SWANN et MICKY (1947) et WHITE (1951). Nous examinerons successivement les différents groupes en terminant par les Acridiens chez lesquels les études ont été beaucoup plus poussées.

Blattidæ. — Signalée par LAING (1930), la parthénogenèse accidentelle des Blattes a été étudiée par GRIFFITHS et TAUBER (1942) pour *Periplaneta americana*, mais l'étude la plus complète est celle de ROTH et WILLIS (1954).

Selon ces auteurs, chez *Supella supellectilium* et *Blatella germanica*, seuls un petit nombre d'œufs vierges arrivent à donner des embryons, encore ceux-ci n'arrivent ils jamais à l'éclosion. Mais chez *Blatta orientalis* et *Periplaneta americana* les oothèques pondues par des femelles vierges donnent fréquemment (85 o/o des cas) quelques éclosions. Les auteurs ont pu ainsi obtenir, pour la deuxième espèce, plus de 500 femelles adultes provenant d'œufs non fécondés. Il s'agit donc d'une parthénogenèse thélytoque accidentelle dont le mécanisme cytologique n'est pas connu.

Mantidæ. — ADAIR (1924) a signalé l'existence d'une parthénogenèse facultative chez une Mante égyptienne, *Miomantis savignii*. Sur 51 femelles vierges isolées par l'auteur, 8 ont pondu un nombre normal d'oothèques. Il se produit une forte mortalité chez les embryons et les jeunes, due en partie aux difficultés de l'élevage. Cependant, on a pu obtenir quelques femelles adultes. L'analyse cytologique n'a pas été faite, mais il semble que les œufs subissent une maturation normale, avec régulation ultérieure (MATTHEY, 1945).

Tettigoniidæ. — MATTHEY (1945) cite les observations de ZACHER (1928) sur *Phlugiola redtenbacheri*, de EICHLER (1938) sur *P. dahlemica* et de SWEZEY (1929) sur *Xiphidiopsis lita*. CAPPE DE BAILLON (1933) a obtenu dans un élevage d'une espèce chinoise normalement bisexuée, *Drymadusa fletcheri*, plusieurs larves d'origine parthénogénétique dont certaines se développèrent jusqu'à l'imago. Le même auteur (1939) étudie les conditions cytologiques de la parthénogenèse accidentelle chez *Leptophyes punctatissima* et constate l'émission de deux globules polaires, suivie de la fusion des deux premiers noyaux de segmentation.

Gryllidæ. — En dehors du cas de parthénogenèse déjà cité, de *Myrmecophila acervorum*, il faut signaler que chez un autre Grillon *Loxoblemmus frontalis*, OHMACHI (1929) a obtenu à la suite de croisements interspécifiques, un certain nombre de larves femelles de type maternel pur et possédant 12 chromosomes comme la mère. Il est évident qu'il ne s'agit pas là d'une parthénogenèse accidentelle mais d'une gynogenèse qui n'en manifeste pas moins la capacité de régulation chromosomique de l'espèce. L'auteur suppose, il est vrai, que les mitoses réductionnelles n'ont pas eu lieu, mais cette interprétation reste très douteuse (MATTHEY, 1945).

Acridiens. — Bien que ne présentant aucun cas connu de parthénogenèse régulière, les Acridiens nous offrent un très grand nombre de cas de parthénogenèse accidentelle ou facultative. Les modalités cytologiques y sont généralement mieux connues que dans les autres groupes et nous conduisent à y distinguer deux types différents.

a) *Tetrigidæ*. — Des études génétiques très poussées ont été poursuivies sur un grand nombre d'espèces américaines de *Tetrigidæ* par NABOURS et son école, entre 1919 et 1950. Chez les espèces *Paratettix texanus*, *P. aztecus*,

Apotettix eurycephalus et *Tettigidea lateralis*, les œufs non fécondés peuvent subir un développement parthénogénétique. La descendance est presque entièrement femelle, il y a ségrégation des caractères hétérozygotes de la mère, et les individus produits par la parthénogenèse sont presque invariablement homozygotes pour tous les facteurs étudiés.

Cytologiquement, les individus d'origine parthénogénétique sont diploïdes. ROBERTSON (1930) suppose que l'œuf non fécondé présente une deuxième division de maturation abortive. Dans les premières divisions de segmentation, il existe chez ces individus une tendance marquée pour les chromosomes homologues à se trouver côte à côte dans les plaques métaphasiques. Dans certains cas, la division du centromère qui aurait dû se produire à la deuxième division de maturation ne s'est pas réalisée, si bien que dans la même plaque métaphasique on trouve à côté de paires de chromosomes parfaitement indépendants l'un de l'autre, des diplochromosomes deux fois plus épais que les chromosomes normaux. De ce fait, lors des premières divisions de segmentation, les cellules paraissent comporter un nombre de chromosomes qui varie de 7 à 14 ($2n = 14$).

En fait, il est assez difficile de comprendre l'homozygotie des descendants parthénogénétiques si l'on admet l'interprétation de ROBERTSON (WHITE, 1951). Il faudrait en effet admettre que tous les gènes étudiés par NABOURS se trouvent assez près du centromère pour être toujours situés entre ce centromère et le premier chiasma.

Il est apparu, au cours de cette étude, un petit nombre de mâles à comportement et formule chromosomique parfaitement normaux, dans certaines descendance obtenues par parthénogenèse. Ils résultent sans doute d'une non-disjonction de l'X au moment du redoublement du nombre des chromosomes (ROBERTSON, 1931); la détermination du sexe de ces espèces est, en effet, du type XO.

b) *Acrididæ*. — On a signalé dans la littérature un grand nombre de cas de parthénogenèse accidentelle chez les *Acrididæ*. On peut rapporter les travaux de PLOTNIKOV (1915) qui signale avoir obtenu quelques femelles adultes à partir de pontes non fécondées de *Locusta migratoria* et de *Dociostaurus maroccanus*, ainsi que des embryons en diapause dans les œufs vierges de *Calliptamus italicus*. FAURE (1923) a obtenu l'éclosion de trois larves à partir d'œufs vierges de *Locusta pardalina*; ces larves n'ont pas atteint l'état adulte et l'auteur n'en spécifie pas le sexe. KING et SLIFER (1934) ont obtenu de nombreux embryons, ainsi que l'éclosion de larves, dont certaines se sont développées jusqu'à l'état adulte, chez *Melanoplus differentialis*. Ici encore la parthénogenèse est thélytoque. Ils ont de plus obtenu des embryons dans d'autres espèces : *Arphia sulfurea*, *Pardalophora apiculata*, *Trimerotropis maritima interior*, *Romalea microptera* et *Dissosteira carolina*. Dans toutes ces espèces il se produit deux divisions de maturation normales. Le développement peut s'arrêter là, mais il se produit souvent une série de divisions de segmentation à l'état haploïde. Par la suite, il semble y avoir une très forte variation entre les différents embryons, certains étant haploïdes, d'autres diploïdes et beaucoup constitués d'un mélange de cellules haploïdes et diploïdes. Quand la diploïdie se trouve restaurée assez tôt, on obtiendrait des

embryons viables. Par contre, les tissus haploïdes seraient non viables ou très peu viables chez les Criquets.

D'autres auteurs ont repris postérieurement cette question, les conclusions de KING et SLIFER n'en sont pas sensiblement modifiées mais se trouvent étendues à d'autres espèces. CREIGHTON et ROBERTSON (1941) ont constaté chez *Chorthippus longicornis* une parthénogenèse thélytoque accidentelle de type haploïde ; par suite d'une régulation incomplète, les embryons obtenus contiennent un mélange de cellules haploïdes et diploïdes. SWANN et MICKY (1947) obtiennent le même résultat chez *Romalea microptera*. Les tissus haploïdes prédominent dans les embryons mais on y trouve aussi des tissus diploïdes et polyplloïdes. Les auteurs concluent à l'existence de phénomènes d'endomitose. Enfin, HAMILTON (1953) a étudié la parthénogenèse chez *Schistocerca gregaria*. Déjà signalée par HUSAIN et MAHUR (1945) cette parthénogenèse offre la particularité par rapport à celles dont nous avons déjà parlé d'être de type pratiquement facultatif ; en effet, HAMILTON a pu élever quatre générations parthénogénétiques successives. Les éclosions sont de l'ordre de 25 0/0 des œufs vierges obtenus, la période d'incubation est à peine prolongée mais la fécondité des femelles réduite. Tous ces caractères en font le seul Acridien (avec les *Tetrigidae*) que l'on puisse mettre sur le même plan que les Phasmides au point de vue de la régularité de la parthénogenèse accidentelle. Malheureusement, nous ne possédons pas encore de travail cytologique sur cette espèce.

Nous pouvons maintenant essayer de tirer quelques caractéristiques générales de la parthénogenèse des Orthoptéroïdes et plus particulièrement des Phasmides. Nous nous arrêterons aux points suivants :

1° La parthénogenèse accidentelle, faisant un passage direct à une parthénogenèse réellement facultative, est extrêmement répandue dans tout le groupe. Toujours thélytoque, elle donne naissance de temps en temps à des mâles parfaitement normaux dans leur comportement et leur cytologie qui résultent probablement d'une non-disjonction du chromosome X. La thélytoquie est en effet en rapport avec un redoublement du stock haploïde de la femelle : $(X + nA) \times 2 = 2X + 2nA$. Le mécanisme cytologique de ce redoublement, assez mal connu chez les Phasmes, serait dû à une sorte d'endomitose, assez mal précisée, intervenant au cours des premières divisions de segmentation pour la famille des *Acriddidae*, alors qu'il résulterait d'un avortement de la deuxième division de maturation (pas d'émission du deuxième globe polaire) dans le cas des *Tetrigidae*. Les autres cas de parthénogenèse accidentelle sont trop mal connus du point de vue cytologique pour permettre une conclusion.

2° La parthénogenèse thélytoque régulière est très fréquente chez les Phasmides et se présente dans ce groupe comme le prolongement direct du premier type envisagé. Nous avons vu qu'on peut l'interpréter comme le résultat de l'isolement fortuit de femelles présentant une parthénogenèse facultative ; il en résulterait alors des cas de parthénogenèse géographique. Cependant, le phénomène peut dépasser ce stade et aboutir à l'établissement de races ou espèces polyploïdes, dans le cas du genre *Leptynia*, par exemple, pour lesquelles la parthénogenèse est devenue probablement le seul moyen possible de reproduction. Il est à noter que, dans ce cas particulier,

on ne connaît pas le mécanisme cytologique qui assure la constance du nombre des chromosomes au cours des générations successives.

Au contraire, dans les autres groupes d'Orthoptéroïdes, la parthénogenèse régulière est une exception. Mais elle présente les mêmes caractéristiques biologiques que celle beaucoup plus fréquente des Phasmides. Citons le caractère géographique qui ressort plus ou moins nettement dans tous les cas connus et la liaison constatée entre cette parthénogenèse et la polyploidie dans le cas de *Saga pedo*. Mais le fait qu'au moins deux de ces cas nous soient mieux connus du point de vue cytologique que ceux des Phasmes leur permet de nous être d'un grand secours dans l'interprétation de ce qui peut se passer chez ces derniers. En effet, il n'y a plus ici de parthénogenèse haploïde avec régulation postérieure du nombre des chromosomes, mais diploïde. On peut concevoir que l'ensemble du groupe des Orthoptéroïdes avec ses nombreux cas de parthénogenèse accidentelle et ses cas de parthénogenèse régulière, surtout répandus chez les Phasmides, puisse nous fournir une explication et peut-être une démonstration directe de la manière dont a pu se réaliser dans la nature l'établissement d'une parthénogenèse géographique. Cet établissement paraît bien, d'après les exemples que nous venons de citer, partir d'un mécanisme assez fragile de redoublement du nombre des chromosomes type acridien, pour aboutir par la suite à un mécanisme plus précis et moins aléatoire, portant généralement sur les divisions de maturation.

C'est dans le but d'aborder des problèmes de cet ordre que j'ai entrepris ce travail.

CHAPITRE II

CARACTÈRES GÉNÉRAUX DE LA PARTHÉNOGÈNE DE *CLITUMNUS EXTRADENTATUS* BR.

D'après ce que nous venons de voir, le groupe d'Orthoptéroïdes le plus avantageux pour étudier l'établissement de souches parthénogénétiques à partir d'une espèce bisexuée paraît être celui des Phasmides, qui présente le plus grand nombre de cas de parthénogenèse réellement facultative. Disposant au Laboratoire de huit espèces en élevage, j'en ai fait une étude préliminaire afin de choisir mon matériel, en lui demandant de remplir deux conditions principales :

1° Il y avait avantage à partir d'une espèce bisexuée, afin de pouvoir comparer les développements de l'œuf fécondé et de l'œuf vierge et ainsi faire plus facilement ressortir les particularités du développement de l'œuf vierge.

2° Il était, d'autre part, normal de retenir l'espèce qui, avant toute sélection, donnerait la parthénogenèse facultative la plus régulière. J'ai adopté comme critère de cette régularité le pourcentage d'œufs vierges qui éclosent dans les conditions normales d'élevage. La viabilité des larves a aussi son importance, mais son étude rigoureuse est délicate et elle n'intervient qu'à titre de facteur secondaire.

J'ai alors fixé mon choix sur une espèce d'origine indochinoise, élevée depuis plusieurs années au Laboratoire, *Clitumnus extradentatus* Br. ⁽¹⁾. Cette espèce bisexuée m'a donné lors des premiers élevages suivis, 66.4 o/o d'éclosions parthénogénétiques pour 9.243 œufs recueillis à partir d'une cinquantaine de femelles isolées de tout mâle depuis l'avant-dernier stade larvaire. Ce pourcentage est plus élevé que tous ceux signalés jusqu'ici par les différents auteurs. En effet, la plupart des espèces étudiées ne donnent que quelques pour-cent d'éclosions. Cependant, CAPPE DE BAILLON, FAVRELLE et DE VICHET (1937) avaient déjà signalé deux espèces où la réussite de la parthénogenèse est assez grande, *Phobæticus sinetyi* et *Parasosibia parva* (environ 44 o/o d'éclosions parthénogénétiques). En dehors de cette forte proportion d'éclosions, *Clitumnus extradentatus* offre d'autres avantages. Il ne présente pas de diapause embryonnaire et la fécondité des femelles est remarquable. On peut recueillir des pontes de plus de 1.500 œufs à partir d'une seule femelle, ce qui rend l'élevage plus facile et donne la possibilité d'obtenir, pour la descendance d'une seule femelle, des chiffres significatifs au point de vue génétique.

Le choix de l'espèce étant ainsi déterminé, une étude plus poussée des différentes caractéristiques biologiques de la parthénogenèse (durée du développement embryonnaire, fécondité des femelles vierges, pourcentage d'éclosion des œufs) m'a permis de constater l'existence de variations individuelles très importantes entre les différentes femelles de l'élevage. L'étude de ces variations que nous allons maintenant examiner m'a conduit à l'isolement de souches dont la parthénogenèse présente des caractéristiques biologiques assez différentes. Mais, avant d'exposer ces résultats, il est utile de préciser les conditions d'élevage adoptées.

I. — Conditions d'élevage.

L'élevage des Phasmes est relativement simple à réaliser. Pourtant il est assez difficile d'obtenir des conditions uniformes dans le temps, de manière à pouvoir comparer utilement les résultats obtenus au cours d'un travail de plusieurs années. C'est pourquoi, dès le début, j'ai adopté les conditions suivantes que j'ai toujours maintenues aussi strictement que possible.

Les Phasmes sont placés durant toute leur vie larvaire et adulte dans des cages suffisamment aérées, mises dans de grandes étuves qui assurent une température constante de 23° C et un degré hygrométrique pratiquement constant. Ils sont nour-

(1) Les élevages du Laboratoire de Génétique Évolutive de Gif-sur-Yvette sont issus d'œufs recueillis par M^{me} DEROUX-STALLA à partir de femelles capturées aux environs de Nhatrang (Côte d'Annam) en 1949. La détermination spécifique, toujours délicate, est due à l'obligeance de M. CHOPARD, professeur au Muséum d'Histoire Naturelle. Cette espèce a déjà fait l'objet, au Laboratoire, de travaux sur la physiologie du développement et de l'adaptation chromatique (M. DUPONT-RAABE, 1956; C. L'HÉLIAS, 1956).

ris de ronce renouvelée deux fois la semaine et disposée pour conserver sa fraîcheur dans des vases remplis d'eau à la façon des bouquets de fleurs. Les œufs sont recueillis, suivant les cas, tous les jours ou toutes les semaines. On les place alors dans de petits tubes de verre, réunis verticalement dans de grands cristallisoirs dont le fond est garni de sable humide. On maintient ces cristallisoirs pendant toute la durée du développement embryonnaire dans une étuve à 27° C. Cette disposition assure une incubation très régulière des œufs, grâce à la température élevée et à un degré hygrométrique très fort. Les tubes où sont gardés les œufs sont recouverts d'une gaze pour empêcher les évasions des larves à l'éclosion. On recueille ces larves fraîchement écloses, quotidiennement dans certaines expériences, et deux fois par semaine dans le cas général; on les transporte alors directement dans les cages d'élevage à 23° dont nous avons déjà parlé.

J'ai maintenant élevé, pour la plupart des souches dont il sera question dans ce travail, 7 à 8 générations parthénogénétiques successives. La durée du développement embryonnaire dans les conditions d'incubation adoptées est d'environ 2 mois; la croissance larvaire qui comporte un nombre de stades variable, entre 7 et 11 chez les femelles, demande dans les conditions de l'élevage de 4 à 6 mois; enfin, la femelle adulte ne commence à pondre qu'au bout de 3 semaines de vie imaginale. La ponte s'étend sur toute la durée de la vie adulte, 6 à 7 mois dans les cas les plus favorables. Ces différentes conditions font que la durée d'une génération est de l'ordre de 9 à 10 mois.

Nous examinerons d'abord les principales caractéristiques biologiques de la parthénogénèse avant de passer à l'étude des différentes souches sélectionnées pour le travail cytologique.

II. — Caractéristiques biologiques de la parthénogénèse.

Les caractéristiques biologiques de la parthénogénèse peuvent se grouper sous un petit nombre de rubriques: durée du développement embryonnaire, sexe des descendants, fécondité des femelles vierges, pourcentage d'éclosions.

A. — DURÉE DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

La considération du temps nécessaire à l'incubation, à 27°, en atmosphère humide, fournit une caractéristique importante qui permet de distinguer sans difficulté les œufs vierges des œufs fécondés. Ces derniers éclosent après un temps d'incubation dont la moyenne se situe autour de 44 jours (3.484 œufs recueillis quotidiennement à la ponte comme à l'éclosion à partir de 7 couples isolés ont donné une moyenne de 44,06 jours, $\sigma = 2,03$) et il n'existe aucune différence significative entre les pontes des différentes femelles. Le tableau II donne le détail de ce résultat.

Les œufs vierges se caractérisent par un développement plus lent d'une durée moyenne de 56 jours environ (2.029 œufs ayant éclos, recueillis à partir de 10 femelles isolées, suivies séparément, ont donné une moyenne de 56,41 jours, $\sigma = 3,83$). Le tableau III donne le détail de ce résultat. Remarquons qu'en plus de la différence dans la moyenne de la durée du développement embryonnaire, on constate pour les œufs vierges l'existence d'un certain

TABLEAU II

Durée du développement embryonnaire des œufs fécondés.

Nombre de jours séparant la ponte de l'éclosion	Nombre d'œufs observés	Pourcentage
38	2	
39	15	0,4 o/o
40	34	1,0 »
41	149	4,3 »
42	487	14,0 »
43	816	23,4 »
44	685	19,6 »
45	512	14,7 »
46	370	10,6 »
47	240	6,9 »
48	155	4,4 »
49	0	
	Total : 3.484	

TABLEAU III

Durée du développement embryonnaire des œufs vierges.

Nombre de jours séparant la ponte de l'éclosion	Nombre d'œufs observés	Pourcentage
49	16	0,8 o/o
50	34	1,7 »
51	94	4,7 »
52	126	6,2 »
53	173	8,5 »
54	250	12,3 »
55	241	11,9 »
56	224	11,0 »
57	239	11,8 »
58	152	7,5 »
59	82	4,0 »
60	78	3,8 »
61	84	4,1 »
62	61	3,0 »
63	41	2,0 »
64	48	2,4 »
65	29	1,4 »
66	12	0,6 »
67	12	0,6 »
68	10	0,5 »
69	6	0,3 »
70	7	0,3 »
	Total : 2.029	

TABLFAU IV

Moyenne de la durée du développement embryonnaire
pour les œufs pondus par les femelles vierges

(1^{re} génération parthénogénétique).

N ^o de la femelle	Moyenne du nombre de jours séparant la ponte de l'éclosion	Écart-type	Nombre d'œufs éclos
A	55,58	3,75	237
B	59,45	4,30	217
D	54,62	2,93	188
K	53,08	2,96	306
L	57,13	3,59	413
M	56,57	3,34	600
N	57,06	3,34	622

nombre d'éclosions retardées qui expliquent, au moins partiellement, la plus forte variabilité. Notons enfin qu'il existe entre les différentes femelles de ce groupe de 10 de légères différences dans la durée d'incubation des œufs (voir tableau IV). Ces chiffres concernent les femelles d'origine bisexuée isolées (première génération parthénogénétique). Nous verrons que dans les générations suivantes, le décalage entre les différentes souches peut s'accroître et devenir assez important. De toute façon, cette caractéristique est très avantageuse, car elle permet de séparer d'une façon à peu près complète dans une ponte régulièrement suivie les larves issues d'œufs fécondés de celles issues d'œufs vierges, comme le fait ressortir la comparaison des tableaux II et III.

B. — SEXE DES DESCENDANTS

Nous avons vu plus haut que la parthénogenèse des Phasmes et plus généralement celle des Orthoptéroïdes est toujours thélytoque. Il en est naturellement ainsi chez *Clitumnus extradentatus*. Dans tous mes élevages qui portent sur au moins 10.000 individus je n'ai constaté l'apparition que d'un seul mâle qui d'ailleurs était parfaitement normal, tant du point de vue cyto-logique que du point de vue comportement (accouplement effectif). D'autre part, il n'est jamais apparu dans mes élevages de gynandromorphes qui sont relativement fréquents dans les espèces à parthénogenèse constante comme *Carausius morosus*, mais semblent totalement absents dans la parthénogenèse facultative des espèces bisexuées (CAPPE DE BAILLON, FAVRELLE et DE VICHET, 1938).

Les larves issues d'œufs fécondés donnent une proportion des sexes absolument normale. Sur 2.473 larves examinées j'ai trouvé 48,9 0/0 $\pm$ 1,9 de mâles et les différents couples isolés ne donnent aucune différence significative à ce sujet. Cependant, CAPPE DE BAILLON, FAVRELLE et DE VICHET signalent pour

la plupart des espèces qu'ils ont étudiées, un déficit de mâles très important. La proportion de ceux-ci s'établit généralement aux environs de 30 o/o. Pourtant je ne crois pas qu'il existe un phénomène particulier à l'espèce que j'ai étudiée ; deux faits peuvent en effet concourir à donner des proportions des sexes anormales chez les Phasmes. D'abord les mâles sont plus fragiles en

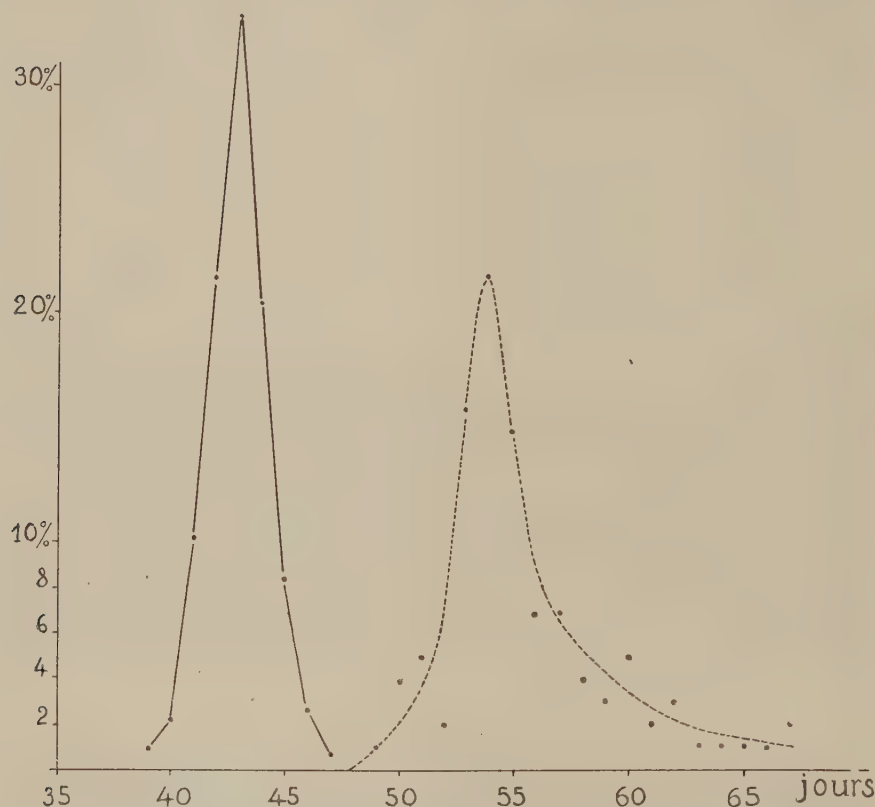


Fig. 1. — Durée du développement embryonnaire des œufs fécondés (trait plein), puis parthénogénétiques (en pointillé) pondus par la femelle A. Pour permettre la comparaison, on a pris dans chaque catégorie d'œufs les pourcentages d'éclosions par rapport à la quantité totale d'éclosions obtenues dans cette catégorie.

élevage que les femelles, à l'état larvaire. Il se produit donc dans les élevages une chute apparente du pourcentage des mâles au cours de la croissance et, pour avoir des résultats valables, j'ai dû examiner les larves sitôt que la reconnaissance des sexes est possible sans risque d'erreur (deuxième stade larvaire). Si l'on examine des adultes, la proportion des mâles y sera encore plus basse, en effet, ceux-ci deviennent adultes plus rapidement que les femelles (généralement un stade larvaire de moins) et leur vie adulte est nettement plus courte. D'autre part, il peut arriver qu'une femelle accouplée

ponde à la fois des œufs fécondés et des œufs vierges, ces derniers étant généralement beaucoup moins nombreux.

On peut d'ailleurs provoquer ce phénomène de la manière suivante. On accouple une femelle au début de sa vie imaginale, puis on l'isole. Les spermatozoïdes mis en réserve dans les spermathèques s'épuisent progressivement, et la femelle ne pond plus à la fin de sa vie que des œufs vierges. Pour en faire la preuve, on peut séparer les larves issues des deux types d'œufs en considérant la durée de leur développement embryonnaire. La figure 1 représente les durées des développements embryonnaires pour les œufs d'une femelle accouplée.



Fig. 2. — Épuisement progressif des spermatozoïdes dans les spermathèques de deux femelles après un accouplement unique (en trait plein : femelle B; en pointillé : femelle A). Les moyennes ont été faites par quinzaine.

une seule fois au début de sa vie imaginale. On constate que la courbe est double et qu'il n'existe pratiquement aucun chevauchement entre ses deux parties. Ce fait a permis, en séparant les larves écloses moins de 50 jours après la ponte de celles écloses après ce délai, d'obtenir dans le premier cas 919 individus dont 48,6 o/o de mâles et pour le second 145 individus dont seulement deux mâles. Ceci illustre bien la possibilité d'isoler dans une ponte mixte les larves d'origine bisexuée des larves parthénogénétiques, fait particulièrement précieux, car nous retrouverons au cours de cette étude d'autres cas de pontes mixtes. La figure 2 montre l'épuisement progressif des spermatozoïdes chez deux femelles après un accouplement unique (chiffres obtenus en séparant les larves écloses d'après leur durée de vie embryonnaire). Après une période de

2 à 3 mois où la fécondation est à peu près complète, la femelle pond un pourcentage de plus en plus important d'œuf vierges et l'on peut recueillir à la fin de sa vie une ponte entièrement parthénogénétique.

C. — FÉCONDITÉ DES FEMELLES VIERGES

CAPPE DE BAILLON, FAVRELLE et DE VICHET ont constaté que, dans les espèces de Phasmides à parthénogénèse facultative, les femelles fécondées pondaient, en moyenne, un nombre total d'œufs plus grand que les femelles vierges. Cependant, cette indication reste assez vague car les femelles vivent normalement de longs mois à l'état adulte (6 à 7 mois pour *Clitumnus extradentatus* dans les cas plus favorables). On peut donc se demander si la variation du

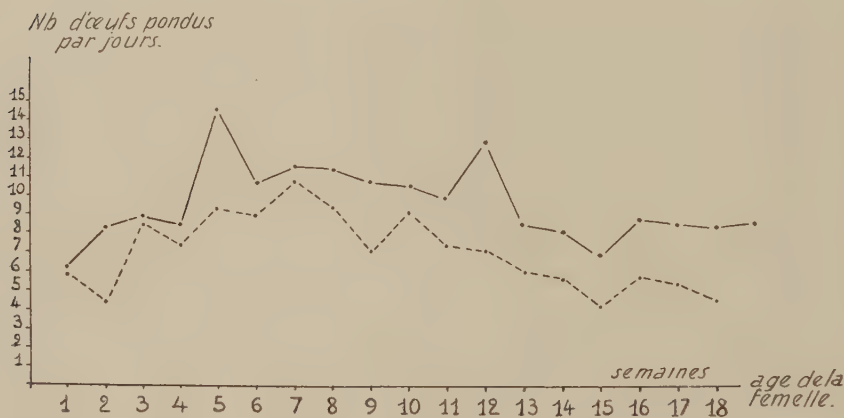


Fig. 3. — Fécondité de deux femelles fécondées en fonction de leur âge (en trait plein : femelle F; en pointillé : femelle I). Les moyennes que représentent les points sont établies semaine par semaine.

nombre total d'œufs pondus est due à une différence de longévité ou s'il s'agit d'une différence de fécondité proprement dite.

L'étude de la ponte de femelles ou de couples isolés appelle un certain nombre de remarques que peut illustrer la figure 3 représentant le nombre d'œufs pondus par semaine par une femelle fécondée, depuis le début de sa vie imaginale jusqu'à sa mort. On peut constater que, malgré des conditions d'élevage standard et le fait que l'on a pris des chiffres hebdomadaires et non quotidiens, le rythme de la ponte reste assez irrégulier, ce qui forcera dans les comparaisons à prendre les moyennes de ponte sur un temps assez long, au moins 2 mois, pour rendre cette moyenne significative. On remarque, d'autre part, que le rythme de ponte a tendance à passer par un maximum vers la 5^e ou 6^e semaine pour décroître ensuite lentement jusqu'à la mort de la femelle ; les comparaisons devront donc porter sur toute la vie adulte ou au moins sur des périodes comparables de celle-ci.

En dehors de l'âge de la femelle il existe un deuxième facteur qui, *a priori*, peut influencer sur le rythme de ponte, c'est la nourriture. Sans doute, ai-je réalisé dans les élevages des conditions aussi régulières que possible, mais on ne saurait prétendre que le feuillage de ronce offre les mêmes qualités nutritives à toutes les périodes de l'année. Ce facteur intervient certainement dans les élevages, en particulier pour la croissance. En effet, on constate un accroissement de la vitesse de développement qui se traduit par une diminution du nombre de stades larvaires pour les animaux qui arrivent en fin de croissance larvaire en automne (mois d'octobre et de novembre) ⁽¹⁾. De même, l'influence sur la fécondité des femelles est assez forte. Nous citerons, pour la mettre en évidence, les résultats obtenus pour trois élevages faits dans les mêmes conditions (femelles vierges d'origine bisexuée dont on recueille la ponte pendant 5 mois à partir du début).

Janvier à mai : 5 femelles ont donné 4.117 œufs, soit une moyenne de 5,32 œufs par jour.

Mai à septembre : 9 femelles ont donné 9.447 œufs, soit une moyenne de 7,02 œufs par jour.

Septembre à janvier : 12 femelles ont donné 7.364 œufs, soit une moyenne de 5,16 œufs par jour.

Nb. d'œufs pondus
par jour.

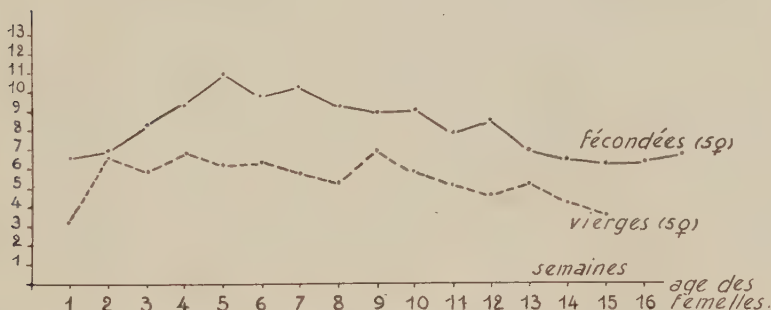


Fig. 4. — Évolution de la fécondité au cours de la vie pour un groupe de femelles fécondées (trait plein) et un groupe de femelles vierges d'origine bisexuée (en pointillé). Moyennes faites semaine par semaine.

Il y a donc une nette amélioration de la fécondité pendant la période où la végétation est active. L'importance de ce facteur nutritif découle encore plus nettement de résultats obtenus aux mois de mars et avril 1956 où, ne disposant que de ronces ayant passé dehors l'hiver particulièrement rigoureux et

⁽¹⁾ Au début du travail, j'avais pensé pouvoir isoler des souches à développement rapide et d'autres à développement plus lent. J'étais ainsi parvenu à isoler deux souches parthénogénétiques dont la croissance en été comportait pour la première 7 ou 8 stades et pour la seconde 9 ou 10. Mais je me suis aperçu que les animaux de la deuxième souche, parvenus au quatrième ou cinquième stade au début de l'automne, complétaient leur développement plus rapidement, passant ainsi par un nombre total de stades équivalent à celui que parcouraient normalement les animaux de la première souche.

dont la végétation n'était pas encore repartie, 12 femelles vierges d'origine bisexuée m'ont donné une moyenne de ponte de 3,94 œufs par jour. Les comparaisons sur la fécondité des femelles fécondées et vierges pour tenir compte de ces deux facteurs, âge de la femelle et nutrition devront donc porter sur des femelles de même âge, élevées côte à côte pendant toute leur vie adulte.

La figure 4 traduit les résultats d'une telle comparaison. On remarquera que si la ponte des femelles fécondées passe bien par un maximum au cours du deuxième mois, celle des femelles parthénogénétiques est d'un rythme beaucoup plus régulier. Cependant, les femelles fécondées pondent constamment davantage, fait que traduisent les moyennes de ponte obtenues.

Femelles fécondées : sur 8 femelles, 7.707 œufs recueillis avec une moyenne de 7,9 œufs par jour.

Femelles vierges : sur 16 femelles, 7.976 œufs recueillis avec une moyenne de 5,96 œufs par jour.

Le tableau V donne les moyennes de ponte obtenues pour des femelles vierges et fécondées élevées à la même époque et suivies individuellement.

TABLEAU V

*Comparaison de la fécondité des femelles fécondées
et des femelles vierges d'origine bisexuée.*

Fécondées n ^{os}	Nombre d'œufs par jour	Vierges n ^{os}	Nombre d'œufs par jour
A	7,45	D	5,90
B	8,20	K	6,80
C	7,15	L	5,50
F	9,20	M	5,45
G	9,10	N	5,40
H	9,00	O	4,80
I	6,50	P	4,50
J	7,20		

La question de la longévité des femelles est beaucoup plus délicate à établir de façon rigoureuse. En effet, si les femelles fécondées vivent, dans de bonnes conditions d'élevage, environ 5 à 6 mois d'une manière très régulière, certaines des femelles vierges meurent très tôt (2^e ou 3^e mois) et l'on constate généralement à ce moment une accumulation d'œufs entièrement formés dans les oviductes. Par contre, les femelles vierges qui dépassent cet âge ont tendance à vivre plus longtemps que les femelles fécondées et ne montrent généralement à l'autopsie que des oviductes vides. L'absence de fécondation provoque donc une rétention partielle des œufs, mais dans le cas où celle-ci n'entraîne pas la mort de la femelle, le nombre total d'œufs pondus ne doit pas grâce à l'augmentation de la longévité être très sensiblement différent de celui des femelles fécondées.

On peut mettre en évidence d'une manière directe cette rétention des œufs due à l'absence de fécondation, en accouplant des femelles qui ont déjà accompli une période de ponte avant fécondation. L'examen de la durée du développement embryonnaire et la proportion des sexes des descendants permet alors de se rendre compte de la réalité de cette fécondation. Dans chaque cas, il se produit après l'accouplement, une augmentation nette de la fécondité. Ainsi ai-je obtenu pour 5 femelles dont la deuxième partie de la ponte est totalement fécondée, les résultats suivants :

Moyenne de ponte parthénogénétique : 6,9 œufs par jour (1.533 œufs au total).
Moyenne de ponte fécondée : 8,1 œufs par jour (1.582 œufs recueillis).

Il était intéressant de savoir si cette fécondité ne subirait pas des variations au cours des générations suivantes. En fait, l'expérience a montré que les femelles de deuxième génération parthénogénétique ont une fécondité beaucoup plus variable que celle des femelles de première génération. Cependant, on peut dire que cette fécondité reste presque toujours inférieure à celle des femelles accouplées les moins fécondes. Le tableau VI montre l'amplitude des variations de la fécondité en deuxième génération. On pourra comparer avec les chiffres du tableau V. Au total, sur 43 femelles de deuxième génération suivies, on a une fécondité moyenne de 4,64 œufs par jour, inférieure à celle des femelles parthénogénétiques de première génération. Ceci est d'ailleurs dû, comme le montre le tableau VI, à l'apparition d'un certain nombre de descendantes à fécondité nettement inférieure à la normale ⁽¹⁾.

De plus, j'ai tenté de recommencer l'expérience faite sur les femelles de première génération parthénogénétique consistant à ne féconder la femelle qu'après avoir recueilli les œufs d'une première période de ponte. Dans aucun des cas suivis, la fécondation ne fait remonter ici la fécondité, pour beaucoup de femelles d'ailleurs cette fécondation s'est révélée à l'analyse très incomplète. Nous ne retiendrons évidemment que les cas de fécondation complète

(1) Pour la commodité de l'exposition, j'ai adopté les conventions suivantes pour désigner les différentes femelles. Au début du travail, j'ai isolé une vingtaine de femelles désignées chacune par une lettre. Celles dont il sera question sont :

Femelles fécondées : A, B, C.

Couples : E, F, G, H, I, J.

Femelles vierges : D, K, L, M, N, O, P.

C'est à partir de ce premier élevage que j'ai isolé les différentes souches désignées selon le code suivant; chaque femelle de deuxième génération parthénogénétique porte la lettre de sa mère affectée d'un numéro porté en indice; ex. : N_4 est la quatrième femelle analysée descendant de la femelle N de première génération. Par la suite, on continue le même symbolisme : ex. : $N_{1,2,2}$ est une femelle de quatrième génération dont les mères sont en remontant les générations $N_{1,2}$, N_1 et N. Enfin, les propriétés des souches étant établies définitivement en deuxième génération parthénogénétique, j'ai souvent procédé à des élevages groupés qui sont alors désignés de la façon suivante : N'_4 représente un ensemble de descendantes de la femelle N_4 ; N_4''' représente la troisième génération obtenue par ce moyen à partir de N_4 .

TABLEAU VI

*Comparaison de la fécondité des femelles parthénogénétiques
de 1^{re} et de 2^e génération.*

Femelles 1 ^{re} génération	Nombre d'œufs par jour	Descendantes (2 ^e génération)	Nombre d'œufs par jour	Moyenne
D	5,9	D ₁	8,1	5,22
		D ₂	5,8	
		D ₃	2,4	
		D ₄	7,4	
		D ₅	7,0	
		D ₆	4,6	
		D ₇	5,8	
		D ₈	5,2	
		D ₉	3,9	
		D ₁₀	4,6	
K	6,8	K ₁	2,6	3,35
		K ₂	4,7	
		K ₃	3,8	
		K ₄	2,9	
		K ₅	5,5	
		K ₇	2,2	
		K ₈	5,8	
		K ₉	1,05	
		K ₁₀	5,2	
P	4,5	P ₁	6,65	2,76
		P ₂	0,15	
		P ₃	1,7	
		P ₄	1,5	
		P ₅	6,35	
		P ₆	3,0	
		P ₇	2,8	
O	4,8	O ₁	4,9	5,01
		O ₂	5,85	
		O ₃	3,75	
		O ₄	5,3	
		O ₅	7,9	
L	5,42	L ₁	6,6	7,02
		L ₂	7,5	
		L ₃	8,0	
		L ₄	5,9	
M	5,45	M ₁	8,0	6,30
		M ₂	8,8	
		M ₃	5,9	
		M ₄	3,9	
N	5,40	N ₁	10,8	6,78
		N ₂	3,6	
		N ₃	8,2	
		N ₄	8,7	

(8 femelles sur une vingtaine mises en présence de mâles). Le résultat d'ensemble se présente alors comme suit :

Moyenne de ponte parthénogénétique : 6,72 œufs par jour pour 2.541 œufs recueillis.

Moyenne de ponte fécondée : 6,52 œufs par jour pour 2.239 œufs recueillis.

On peut légitimement attribuer la légère diminution de fécondité au vieillissement des femelles. Tout se passe donc comme si dans le cas des femelles parthénogénétiques de 2^e génération la fécondité se trouvait limitée par un facteur qui ne joue pas pour les femelles de 1^{re} génération et ne pouvait plus être augmentée par la fécondation. Nous reviendrons ultérieurement sur l'interprétation de ce fait, ainsi que sur celui de la difficulté d'obtenir une fécondation totale de ces femelles.

En 3^e et 4^e générations parthénogénétiques, les différentes femelles suivies individuellement reproduisent à peu de chose près la fécondité de leur mère d'une manière très homogène. Malheureusement les élevages ont dû obligatoirement se faire à des saisons différentes, ce qui rend plus fragile la comparaison. Nous pouvons cependant citer à titre d'exemple deux souches caractérisées comme nous le verrons par la suite par leur fort pourcentage d'éclosions, N₄ et O₅ ; en 3^e génération, 8 femelles suivies individuellement ont donné une fécondité moyenne de 5,44 œufs par jour et en 4^e génération dans les mêmes conditions 6 femelles donnent 5,30 œufs par jour en moyenne. Dans une autre souche caractérisée par un pourcentage d'éclosions beaucoup plus faible O₂, en 3^e génération j'ai pu constater une fécondité moyenne de 3,9 œufs par jour et en 4^e génération une moyenne de 4,4 œufs par jour. Enfin, la plupart des souches suivies en sont maintenant à la 8^e génération et il ne s'est produit aucun abaissement notable de la fécondité.

D. — POURCENTAGE D'ÉCLOSIONS DES ŒUFS VIERGES

Nous avons déjà noté que, pour les femelles d'origine bisexuée, le pourcentage moyen d'éclosions est très fort par rapport à celui qu'indiquent les différents auteurs dans les cas de parthénogenèse facultative des Phasmides (66 o/o environ). Cependant, il reste très inférieur à celui des œufs fécondés. A titre de comparaison, citons le chiffre moyen obtenu dans ce cas, sur 9 femelles et 7.439 œufs recueillis, qui est de 92,2 o/o. Le tableau VII donne le détail pour chacune des femelles, on remarquera que le taux d'éclosion ne s'abaisse jamais pour celles-ci au-dessous de 80 o/o. Il était intéressant d'analyser comment se comportent individuellement les femelles parthénogénétiques de première génération. Dans une première expérience, j'ai suivi l'éclosion des œufs de 18 de ces femelles. Mis à part deux exceptions, elles se répartissent en deux groupes correspondant aux deux colonnes de droite du tableau VII. Le premier groupe donne un pourcentage d'éclosions à peine inférieur à celui des femelles fécondées (3.223 éclosions pour 3.745 œufs recueillis) soit un taux moyen de 86,2 o/o. Par contre, le deuxième groupe ne donne qu'un pourcentage très inférieur qui oscille entre 43 et 52 o/o. Le

TABLEAU VII

Taux d'éclosions des œufs pondus par les femelles fécondées et celles de 1^{re} génération parthénogénétique.

Femelles fécondées	Taux d'éclosions	Femelles vierges (1 ^{er} groupe)	Taux d'éclosions	Femelles vierges (2 ^e groupe)	Taux d'éclosions
A	98,2 ± 1,0 o/o	L	79,7 ± 3,7 o/o	D	43,3 ± 4,8 o/o
B	94,5 ± 2,3 »	M	89,8 ± 2,4 »	K	44,8 ± 3,9 »
C	88,5 ± 2,2 »	N	91,3 ± 2,3 »	B	49,0 ± 4,3 »
F	82,5 ± 2,4 »	A	88,4 ± 3,6 »	G ₃	43,2 ± 5,7 »
		A	88,4 ± 4,2 »		
G	96,5 ± 1,5 »	G ₁	86,1 ± 3,8 »	G ₄	50,5 ± 5,3 »
	96,5 ± 1,9 »				
H	91,4 ± 1,6 »	J ₂	82,0 ± 4,1 »	J ₁	43,7 ± 5,4 »
I	87,0 ± 2,4 »	J ₃	75,4 ± 5,4 »	J ₃	52,4 ± 4,9 »
J	96,5 ± 1,2 »	J ₄	91,0 ± 2,9 »		

Remarques :

1) Les femelles A et B ont donné, après une ponte fécondée, une ponte parthénogénétique assez abondante pour permettre un calcul significatif, elles figurent donc dans les deux colonnes correspondantes.

2) Deux autres femelles parthénogénétiques ont donné respectivement :

$$G_2 : 26,0 \pm 4,6 \text{ o/o}; P : 12,4 \pm 3,2 \text{ o/o}.$$

3) Pour les pourcentages élevés, on ne peut plus supposer la répartition symétrique, j'ai alors fait le calcul de l'intervalle de confiance en me servant d'une transformation angulaire (FISHER et YATES, 1953). Cependant, dans la plupart des cas, les deux intervalles de confiance vers le haut et vers le bas sont très peu différents; pour ne pas alourdir la présentation, j'ai alors pris comme valeur commune celle du plus grand intervalle calculé et ce n'est que dans les cas où les différences sont assez fortes que j'ai indiqué les deux valeurs.

tableau VII donne d'ailleurs les chiffres obtenus dans chaque cas, ainsi que l'intervalle de confiance ($M \pm 2\sigma$ avec $\sigma = \frac{pq}{n}$). La moyenne totale obtenue pour ce groupe de femelles est de $46,75 \text{ o/o} \pm 1,80$ donc à peu près aussi éloignée de 50 o/o que le taux d'éclosion des œufs pondus par les femelles fécondées ou les femelles parthénogénétiques de la première catégorie l'est de 100 o/o. Il est dès lors tentant de supposer l'existence chez les femelles parthénogénétiques de la deuxième catégorie d'un gène léthal récessif. En effet, nous avons vu que, dans les cas cytologiquement étudiés de parthénogenèse facultative chez les Orthoptéroïdes l'embryon diploïde résulte très probablement du redoublement d'un stock haploïde de chromosomes, postérieur aux deux divisions de maturation de l'œuf. Dans ces conditions, tout descendant d'origine parthénogénétique est homozygote, et un gène léthal récessif chez la mère provoquera la mort de 50 o/o de ces descendants.

Les deux exceptions déjà signalées resteraient d'ailleurs dans le cadre

général de cette hypothèse. L'une de ces femelles parthénogénétiques de première génération a en effet donné un pourcentage d'éclosions de $26,0 \pm 4,6$, l'autre un pourcentage de $12,4 \text{ o/o} \pm 3,2$; ces chiffres voisins de 25 o/o et de $12,5 \text{ o/o}$ peuvent s'expliquer par l'existence chez ces femelles de deux ou trois gènes léthaux récessifs.

Dans le but de vérifier cette hypothèse j'ai étudié d'une part le taux d'éclosion des œufs pondus par les femelles de 2^e génération et d'autre part le développement embryologique des œufs pondus par les femelles de première génération parthénogénétique, supposées porteuses d'un gène léthal. Ces expériences ont naturellement conduit à l'analyse du taux d'éclosion de nouvelles femelles de 1^{re} génération, si bien qu'actuellement les résultats globaux sont les suivants : pour 51 femelles étudiées, 26 ont un taux d'éclosion comparable à celui des femelles fécondées, 21 donnent un peu moins de 50 o/o d'éclosions, 3 aux environs de 25 o/o et une aux environs de $12,5 \text{ o/o}$.

1. — *Pourcentage d'éclosion des œufs pondus
par les femelles parthénogénétiques de 2^e génération.*

KING et SLIFER (1934) ne pensent pas pouvoir attribuer le peu de réussite de la parthénogenèse facultative chez les Acridiens à l'existence de gènes léthaux. En effet, il n'y a pas amélioration du taux d'éclosion en deuxième génération parthénogénétique, alors que les gènes léthaux postulés devraient se trouver éliminés. Il est possible de pousser ici l'analyse plus loin. On peut en effet séparer les descendantes des femelles supposées porteuses d'un gène léthal en première génération, des descendantes de celles qui donnent beaucoup d'éclosions et analyser séparément le taux d'éclosion des œufs qu'elles produisent. Si les facteurs ayant joué en 1^{re} génération sont éliminés, on ne doit trouver aucune différence entre les deux descendances. Les résultats obtenus sont les suivants : pour les femelles issues du groupe à forte éclosion, j'ai suivi individuellement 12 descendantes qui ont donné 4.258 œufs avec une moyenne d'éclosions de $50,3 \text{ o/o} \pm 1,5$. Les femelles issues de l'autre groupe (19 cas analysés) ont donné 4.871 œufs avec une moyenne d'éclosions de $49,5 \text{ o/o} \pm 1,4$. Il est donc incontestable que les facteurs ayant joué en 1^{re} génération ont été éliminés dans ce cas.

Mais il n'en reste pas moins que le taux d'éclosion moyen en 2^e génération parthénogénétique est largement inférieur à celui de la 1^{re} génération. L'analyse individuelle de chacune des femelles de 2^e génération que reproduit le tableau VIII va nous permettre de donner une interprétation de ce fait. On constate en effet pour le taux d'éclosion, comme nous l'avions déjà fait pour la fécondité, une variation très grande et pratiquement continue des propriétés des femelles de 2^e génération, ainsi le taux d'éclosion y varie de 0 o/o à 95 o/o sans qu'il soit possible de faire aucune catégorie du type utilisé pour l'interprétation de la 1^{re} génération. Il faut remarquer, d'ailleurs, que cette situation est tout à fait compatible avec l'hypothèse de l'homozygotie des produits de la parthénogenèse. En effet, on ne peut avoir élimination que des gènes léthaux, mais beaucoup de gènes semi-léthaux ou simplement défavorables récessifs vont pouvoir se manifester. Il faut noter

TABLEAU VIII

Taux d'éclosions des œufs pondus par les femelles parthénogénétiques de 2^e génération.

D 43,3 ± 4,8 o/o	D ₁ 65,8 ± 4,8 o/o D ₂ 84,0 ± 4,4 » D ₃ 16,0 ± 5,4 » D ₄ 1/310 D ₅ 87,8 ± 3,7 »	D ₆ 49,5 ± 5,8 o/o D ₇ 51,3 ± 4,9 » D ₈ 21,0 ± 4,8 » D ₉ 28,4 ± 5,6 » D ₁₀ 39,4 ± 5,6 »
K 44,8 ± 3,9 o/o	K ₁ 80,2 ± 5,6 o/o K ₂ 73,2 ± 6,7 » K ₃ 22,3 ± 5,5 » K ₄ 54,8 ± 7,3 » K ₅ 75,5 ± 5,9 »	K ₆ pas de ponte K ₇ 64,0 ± 7,0 » K ₈ 21,4 ± 5,2 » K ₉ 5/74 K ₁₀ 77,0 ± 5,1 »
P 12,4 ± 3,2 o/o	P ₁ 12,7 ± 3,6 o/o P ₂ 79,5 ± 7,6 » P ₃ 0/11 P ₄ 27,5 ± 6,5 » P ₅ 01/21	P ₆ 0/139 P ₇ 81,0 ± 4,2 » P ₈ 25,8 ± 5,1 » P ₉ 19,4 ± 5,7 »
O 61,2 ± 8,4 o/o	O ₁ 81,2 ± 4,6 o/o O ₂ 30,0 ± 5,4 » O ₃ 82,5 ± 3,3 »	O ₄ 36,0 ± 5,2 o/o O ₅ 91,2 ± 3,1 »
L 81,5 ± 3,5 o/o	L ₁ 37,5 ± 5,6 » L ₂ 87,6 ± 3,5 »	L ₃ 57,8 ± 5,1 » L ₄ 36,7 ± 5,8 »
M 88,5 ± 2,3 o/o	M ₁ 48,5 ± 5,8 o/o M ₂ 89,0 ± 3,2 »	M ₃ 2,5 ± 1,2 o/o M ₄ 0/198
N 91,5 ± 2,3 o/o	N ₁ 81,0 ± 4,3 » N ₂ 20,4 ± 4,8 »	N ₃ 68,8 ± 4,7 o/o N ₄ 94,5 ± 2,5 »

qu'un certain nombre de ces facteurs doivent influer sur une autre partie du développement que l'embryologie, en particulier sur la constitution de l'œuf lui-même (ovogenèse). Alors que la fécondation fait toujours remonter le taux d'éclosion des femelles de 1^{re} génération vers 90 o/o il n'en est plus de même pour les femelles de 2^e génération, le taux d'éclosions y remonte toujours assez sensiblement avec la fécondation mais dans le cas de femelles donnant peu d'éclosions parthénogénétiques, reste toujours très inférieur à ce chiffre. On peut rapprocher ce fait du phénomène analogue que nous avons relaté pour la fécondité. De même, c'est par l'état totalement homozygote de ces femelles que peut s'expliquer l'existence de légères malformations ou de modifications de l'instinct qui en empêche un grand nombre de s'accoupler avec fruit.

2. — *Pourcentage d'éclosions des femelles parthénogénétiques de 3^e génération et au-delà.*

Si les femelles de deuxième génération sont bien homozygotes nous devons nous attendre à retrouver dans les générations suivantes les mêmes caractéristiques inchangées. Il en est bien approximativement ainsi pour les fécondités comme nous l'avons déjà vu. En fait, il se produit des différences assez importantes dans la fécondité des générations successives, mais celles-ci ne dépassent pas l'amplitude des variations dues aux conditions de nutrition. Cependant, du fait même de cette variabilité on ne peut attacher trop d'importance au caractère fécondité. Le taux des éclosions semble beaucoup plus stable, surtout pour les souches qui donnent un fort pourcentage. On peut se référer, par exemple, aux résultats obtenus dans les générations successives des souches N₄, O₅ et L₂ (tableau IX). J'ai, de plus, été amené à suivre les éclosions des œufs de femelles isolées de 3^e et 4^e générations parthénogénétiques pour les souches N₄ et O₅ et les chiffres obtenus (tableau X) montrent que dans ce cas les variations individuelles sont très faibles.

TABLEAU IX

Taux d'éclosions des œufs vierges pondus par les femelles des différentes souches à partir de la 2^e génération parthénogénétique.

Souche	2 ^e génération	3 ^e génération	4 ^e génération	5 ^e génération	6 ^e génération
O ₅	91,2 ± 3,1 o/o	87,5 ± 1,7 o/o	87,8 ± 1,3 o/o	81,0 ± 1,2 o/o	79,0 ± 1,0 o/o
N ₄	94,5 ± 2,5 »	95,0 ± 1,0 »	93,8 ± 1,2 »	88,1 ± 0,8 »	86,1 ± 1,2 »
L ₂	86,7 ± 3,5 »	71,6 ± 2,6 »	65,4 ± 2,3 »	68,0 ± 2,2 »	73,1 ± 1,9 »
O ₃	82,5 ± 3,3 »	75,0 ± 4,1 »	73,9 ± 2,1 »	60,7 ± 4,0 »	59,7 ± 2,4 »
L ₃	57,8 ± 5,1 »	39,3 ± 2,1 »	30,1 ± 3,0 »	54,1 ± 1,9 »	52,5 ± 2,0 »
O ₂	30,0 ± 5,4 »	20,4 ± 4,6 »		éteinte	
M ₁	48,5 ± 5,8 »	49,6 ± 2,5 »	40,8 ± 2,2 »	31,9 ± 2,1 »	23,1 ± 2,3 »

Par contre, le phénomène est beaucoup plus variable dans le cas où la femelle d'origine (2^e génération) présentait un taux d'éclosions faible, c'est le cas dans le tableau IX des souches L₃, O₂ et M₁. Il semble même ici y avoir une forte influence des conditions de l'élevage et de l'incubation des œufs. Nous reviendrons sur ce sujet au moment où nous examinerons les caractéristiques biologiques des différentes souches étudiées.

Mais avant de passer à cette étude, nous allons examiner de plus près le mode d'action des gènes léthaux dont nous avons postulé l'existence chez les femelles parthénogénétiques d'origine bisexuée. On sait en effet que dans de nombreux cas les gènes léthaux qui agissent au cours du développement embryonnaire tuent l'embryon à un stade de développement bien déterminé qui les caractérise, et permet d'affirmer qu'il s'agit bien de gènes léthaux (HADORN, 1955).

TABLEAU X

Variabilité entre femelles de même souche (taux d'éclosions).

Souche M ⁽¹⁾	Souche N ⁽¹⁾	Souche O ⁽¹⁾
4 ^e génération	3 ^e génération	3 ^e génération
(M ₁) ₁ ' 48,1 ± 7,0 0/0	N _{4.1} 93,0 0/0	O _{5.1} 93,7 0/0
(M ₁) ₂ ' 22,3 ± 6,0 »	N _{4.2} 94,5 »	O _{5.2} 90,6 »
(M ₁) ₃ ' 65,0 ± 6,7 »	N _{4.3} 96,5 »	O _{5.3} 83,0 »
(M ₁) ₄ ' 51,7 ± 7,1 »	N _{4.4} 97,0 »	O _{5.4} 81,5 »
(M ₁) ₅ ' 38,8 ± 7,1 »	N _{4.5} 91,5 »	O _{5.5} 85,0 »
(M ₁) ₆ ' 30,6 ± 6,7 »		
(M ₁) ₇ ' 39,1 ± 7,0 »	4 ^e génération	
(M ₁) ₈ ' 44,7 ± 6,8 »	N _{4.2.1} 94,2 »	
(M ₁) ₉ ' 17,3 ± 5,3 »	N _{4.2.2} 91,5 »	
(M ₁) ₁₀ ' 46,6 ± 7,2 »	N _{4.2.3} 95,1 »	
	N _{4.2.4} 94,7 »	

⁽¹⁾ Chiffres portant sur 300 œufs environ pour chaque femelle.

3. — Mode d'action des gènes léthaux.

Comme nous l'avons vu, les œufs parthénogénétiques éclosent au bout de deux mois d'incubation environ, au-delà de cette limite il se produit encore quelques éclosions retardées, mais, au bout de 3 mois, il n'y a plus de sorties de larves et les œufs qui restent ne donnent jamais d'éclosions, même si on les garde au-delà d'une année. Pour se rendre compte de l'état d'évolution où leur développement s'est définitivement arrêté, il suffit donc de fixer les œufs non éclos au bout de 3 mois d'incubation et d'en étudier l'embryon. Quand on pratique cette opération sur les quelques pour cent d'œufs fécondés n'ayant pas éclos, on s'aperçoit qu'ils se répartissent à peu près également entre deux états de développement très différents : les uns ne montrent aucun embryon visible, dans les autres au contraire l'embryon est complètement achevé et semble prêt à sortir de l'œuf, sa pigmentation est en général incomplète, mais tous les tissus sont devenus brunâtres, signe certain de la mort. Une étude plus poussée du premier cas permet, par coloration de la calotte postérieure du vitellus *in toto*, de se rendre compte qu'il existe dans ces œufs un petit nombre de noyaux (une centaine au plus) répartis sur la surface du vitellus. Le développement s'est donc arrêté aux premiers stades de la segmentation. Il est extrêmement rare de trouver dans les œufs non éclos des embryons morts à un stade intermédiaire (quelques unités sur plusieurs milliers d'œufs ainsi examinés). Ce fait n'est d'ailleurs pas extrêmement surprenant car les deux stades correspondent aux arrêts provisoires de développement que constate Vox (1954) chez *Clonopsis gallica*, et le deuxième au stade de diapause de *Bacillus libanicus* (Moscona, 1950). L'ouverture des œufs non éclos pondus par les femelles de 1^{re} génération parthénogénétique qui manifestent un fort pourcentage d'éclosions montre des

TABLEAU XI

*Analyse de l'action des gènes léthaux
sur le développement embryonnaire.*

Nos de la femelle	Nombre d'œufs observés	Pourcentage de larves écloses	Pourcentage d'embryons achevés morts	Pourcentage d'œufs non développés	Gènes léthaux
1	891	91,2 ± 1,7 2,0	4,0	4,7	O
2	689	46,9 ± 3,8	2,5	50,7	L ₁
3	1.345	45,3 ± 2,7	52,6	2,1	L ₂
4	1.141	93,1 ± 1,4 1,8	4,6	2,2	O
5	934	42,6 ± 3,2	2,9	54,5	L ₁
6	1.552	46,6 ± 2,5	50,6	2,8	L ₂
7	1.000	44,9 ± 3,2	1,1	54,0	L ₁
8	1.075	92,1 ± 1,6	2,3	4,6	O
9	799	38,8 ± 3,4	1,9	59,2	L ₁
10	540	34,0 ± 4,1	10,5	55,5	L ₁
11	676	40,0 ± 3,8	8,5	51,5	L ₁
12	622	82,0 ± 3,1	11,5	6,3	O
13	772	94,0 ± 1,5 1,9	2,5	3,5	O
14	1.030	93,0 ± 1,6	2,2	4,8	O
15	624	41,1 ± 3,9	3,9	55,0	L ₁
16	318	40,0 ± 5,5	7,4	52,6	L ₁
17	113	42,5 ± 9,3	1,7	55,7	L ₁
18	79	39,3 ± 11,0	5,0	55,7	L ₁
19	201	83,2 ± 5,3	7,4	9,4	O
20	102	85,3 ± 7,1	2,0	12,7	O
21	92	19,6 ± 8,3	27,2	53,3	L ₁ + L ₂

faits exactement semblables. Le tableau est, par contre, différent dans le cas des œufs non éclos pondus par les femelles d'origine bisexuée à pourcentage d'éclosions voisin de 50 o/o ou 25 o/o, chez lesquelles nous soupçonnions la présence d'un ou deux gènes léthaux. Le tableau XI résume les résultats obtenus sur 21 femelles d'origine bisexuée. On peut constater que, dans le cas des femelles qui donnent environ 50 o/o d'éclosions, les œufs non éclos contiennent à peu près uniquement, soit un vitellus sans trace apparente d'embryon (femelles marquées L₁ dans la dernière colonne), soit des embryons ayant pratiquement terminé leur développement (femelles marquées L₂ dans la dernière colonne). Enfin, la seule femelle donnant près de 25 o/o d'éclosions qu'il m'a été possible d'analyser de cette manière présente environ 50 o/o d'œufs sans apparence de développement et environ 25 o/o d'embryons achevés. Elle serait donc porteuse à la fois des deux types de gènes léthaux mis en évidence (L₁ et L₂). Cette existence de deux types différents d'arrêt définitif du développement apporte une preuve de la réalité des gènes léthaux dont nous avons jusqu'ici supposé l'existence. Naturellement, il ne saurait être question d'attribuer à l'action de ces gènes léthaux l'absence d'éclosion des quelques œufs qui meurent aux mêmes stades, dans les pontes de femelles fécondées ou de femelles parthénogénétiques de première génération à taux

d'éclosions élevé. Il est donc logique de penser qu'il existe dans le développement embryonnaire deux stades de fragilité maximum, correspondant aux deux stades connus de diapause où il se produit toujours une faible mortalité. Il existerait alors deux types principaux de gènes léthaux : les uns dont l'action se manifesterait très tôt entraineraient régulièrement la mort au premier stade, les autres à action plus tardive permettraient à l'embryon de se développer jusqu'au deuxième stade mais l'empêcheraient de le franchir.

E. — CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES DES INDIVIDUS ISSUS DE LA PARTHÉNOGÈNÈSE

Ayant ainsi apporté une preuve en faveur de l'homozygotie des femelles issues de la parthénogénèse, je me suis demandé s'il ne serait pas possible d'en fournir une démonstration définitive par l'étude de caractères génétiques à effet morphologiquement visible, ce que NABOURS (1919-1950) a pu réaliser pour les différences espèces de *Tetrigidæ* qu'il a étudiées. Malheureusement, l'élevage de *Clitumnus extradentatus* du Laboratoire ne semblait présenter aucun caractère génétique utilisable dans ce but. Pourtant FRYER (1913) a décrit chez une espèce voisine deux paires d'allèles conditionnant l'une la présence ou l'absence de cornes chez la femelle, l'autre la coloration générale du corps : verte ou jaune brunâtre. Il existait bien dans les élevages bisexués, parmi de nombreuses larves jaune brunâtre, quelques larves d'un beau vert très faciles à distinguer. Mais leur élevage suivi individuellement montre qu'elles subissent au cours de la croissance une mélanisation progressive qui affecte aussi d'ailleurs les larves jaunes, si bien que la distinction à l'état adulte s'efface presque complètement. Je me suis cependant aperçu que dans certaines souches parthénogénétiques le nombre de larves vertes était très important (de l'ordre de 80 o/o). De plus, si dans ces souches on conduit des élevages séparés des femelles provenant de larves vertes d'une part et de larves jaunes d'autre part, on s'aperçoit que le pourcentage de larves vertes reste à peu près le même dans les deux cas, ce qui reste favorable à l'hypothèse de l'homozygotie des souches établies à partir des femelles parthénogénétiques de 2^e génération. Cependant, cette étude ne peut nous en donner une démonstration correcte. Je me suis aperçu récemment que la couleur du vitellus des œufs pouvait fournir un caractère plus constant. En effet, à côté d'œufs à vitellus brun plus ou moins clair et plus ou moins rougeâtre, il existe des œufs dont le vitellus est jaune verdâtre d'une manière très homogène. Tous les œufs pondus par une femelle ont la même couleur de vitellus. Cette couleur est aussi la même pour les œufs pondus par toutes les femelles d'une même souche parthénogénétique ; les femelles des souches présentant une forte proportion de larves vertes donnant toujours des œufs à vitellus jaune-verdâtre. Enfin, dans les élevages bisexués la proportion de femelles pondant des œufs à vitellus jaune verdâtre est de 6 à 7 o/o alors que les femelles issues d'une première parthénogénèse donnent une proportion de 25 o/o environ d'individus de ce type. Ces premiers résultats sont évidemment en faveur de l'existence d'un gène récessif conditionnant la coloration jaune-vert du vitellus, mais de nombreuses difficultés en rendent l'étude délicate : la durée

d'une génération est de près d'une année, d'autre part le gène ne se manifeste que chez les femelles, enfin en face d'un caractère de coloration jauneverd bien homogène, existent des colorations brun ou brun-rouge très variées.

J'ai pensé, naturellement, à provoquer l'apparition de mutations visibles par des traitements aux rayons X. Les femelles traitées semblent ne pouvoir donner aucun résultat. Elles sont en effet suivant la dose employée, ou totalement fertiles, et je n'ai pu déceler dans ce cas aucune mutation visible dans la descendance, ou entièrement stériles. Les mâles sembleraient, de prime abord, plus favorables : on peut en effet y observer des stérilités partielles, mais dans ce cas les femelles avec lesquelles ils s'accouplent fonctionnent en grande partie parthénogénétiquement et peu de descendants possèdent en fait des chromosomes venant du mâle. La recherche de mutations visibles dans un tel cas est difficile car elle nécessite des élevages très nombreux qu'il est impossible de réaliser avec des animaux de cette taille. En fait, dans les élevages trop restreints que j'ai pu réaliser, je n'ai constaté l'apparition que de quelques individus porteurs de malformations qui ont entraîné, soit leur mort à l'état larvaire, soit une absence de ponte chez l'adulte.

D'autres propriétés que nous utiliserons dans la caractérisation des souches (poids des œufs, taille des individus adultes) sont probablement de détermination polygénique et ne sauraient donc servir à notre démonstration. Faute d'avoir pu en donner une meilleure preuve, nous retiendrons donc, à la fin de cet exposé des caractères généraux de la parthénogenèse de *Clitumnus extradentatus*, l'homozygotie probable des descendants obtenus par ce moyen, principalement basée sur l'existence des gènes léthaux.

Mais avant de passer à l'étude embryologique et cytologique du phénomène, nous allons essayer de caractériser rapidement les différentes souches, issues chacune d'une femelle de 2^e génération parthénogénétique, qui ont été utilisées dans cette étude.

F. — PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES DES DIFFÉRENTES SOUCHES UTILISÉES

La descendance de chaque femelle parthénogénétique de deuxième génération constitue une souche homogène. Il ne pouvait être question de suivre toutes les descendance de la centaine de femelles de ce type étudiées séparément. J'ai donc retenu en troisième génération neuf souches qui représentaient à peu près la variabilité totale constatée. Certaines (P_1 , K_3) à faible taux d'éclosions (environ 10 o/o) se sont éteintes naturellement après la troisième génération, une autre (O_2 , environ 25 o/o d'éclosions) s'est éteinte après la quatrième génération. Les six autres m'ont donné jusqu'ici sept générations, ce sont N_4 , O_5 , L_2 , O_3 , L_3 et M_1 en les rangeant par ordre décroissant du taux d'éclosion des œufs vierges. On va ainsi de 90 o/o environ pour N_4 ou O_5 à 40 o/o environ pour M_1 . D'autres caractères que le pourcentage d'éclosions sont d'ailleurs à considérer et le tableau XII qui résume les différentes caractéristiques des souches utilisées permet de distinguer immédiatement l'intérêt que présente chacune d'elles et qui justifie de son maintien.

TABLEAU XII

*Principales caractéristiques des souches utilisées
pour le travail embryologique et cytologique.*

Souches	O ₅	N ₄	L ₂	O ₃	L ₃	M ₁	O ₂
Durée du développement embryonnaire . . .	56 jours	64 jours	57 jours	53 jours	56 jours	58 jours	56 jours
Pourcentage d'éclosions.	Fort Régulier	Fort Régulier	Fort Un peu irrégulier	<i>Id.</i>	Moyen Bcp. d'emb. morts	Moyen très variable	Faible 25 o/o
Poids moyen des œufs . . .	3,15 mg.	3,57 mg.	4,02 mg.		3,39 mg.	3,72	3,10
Nombre d'œufs pesés. . .	2.706	2.694	917		1.479	3.078	1.051
Couleur des œufs. . .	Brun rouge	Jaune-vert	Brun	Brun clair	Brun	Jaune-vert	Brun rouge

Un des caractères signalés est le poids moyen des œufs. Il s'agit en effet d'une propriété stable à l'intérieur d'une souche. On peut étudier la variabilité du poids des œufs de deux manières différentes : en comparant les poids individuels des œufs pris dans la ponte d'une même femelle ou en ne considérant que les poids moyens des œufs pondus par chaque femelle, ce qui permet de comparer les différentes femelles entre elles.

Dans le premier cas, on constate que les différents œufs pondus par une même femelle d'origine bisexuée présentent une faible variabilité. J'ai obtenu par exemple, pour deux femelles choisies comme donnant un poids moyen très différent :

Femelle 4 : $M = 3,33$ mg., $\sigma = 0,092$ pour 101 œufs.

Femelle 10 : $M = 4,15$ mg., $\sigma = 0,13$ pour 79 œufs.

Les femelles d'origine parthénogénétique donnent généralement une variabilité beaucoup plus forte qui s'accroît quand le poids moyen des œufs diminue. Ce fait est alors corrélatif d'une faible viabilité des embryons. Par exemple, pour trois femelles choisies d'après le même critère que précédemment, j'ai obtenu :

Femelle 1 : $M = 4,03$ mg., $\sigma = 0,19$ pour 74 œufs.

Femelle 2 : $M = 3,40$ mg., $\sigma = 0,23$ pour 86 œufs.

Femelle 3 : $M = 2,69$ mg., $\sigma = 0,58$ pour 62 œufs.

Enfin, la variabilité du poids des œufs pondus par un ensemble de femelles appartenant à la même souche est du même ordre de grandeur, comme il fallait s'y attendre. J'ai obtenu par exemple, pour la souche O_5 :

$$M = 3,17 \text{ mg.}, \sigma = 0,26 \text{ pour } 93 \text{ œufs.}$$

Si l'on considère au contraire la variabilité du poids moyen des œufs pondus par différentes femelles prises individuellement, on obtient alors les résultats suivants :

Femelles d'origine bisexuée :

Pour 20 femelles, M générale = 3,74 mg., σ = 0,19.

Femelles de deuxième génération parthénogénétique (issues d'une même femelle d'origine bisexuée) :

Pour 38 femelles, M générale = 3,74 mg., σ = 0,40.

Femelles prises dans une même souche (quatrième génération parthénogénétique) :

L_3 : 16 femelles, M générale = 3,39 mg., σ = 0,15.

L_2 : 13 femelles, M générale = 4,20 mg., σ = 0,21.

Comme on pouvait le prévoir malgré une variabilité plus forte des œufs pondus par une même femelle parthénogénétique, la variabilité des poids moyens des œufs pondus par différentes femelles d'une même souche n'est pas plus forte que celle que l'on constate entre les différentes femelles d'origine bisexuée. Par contre, elle est beaucoup plus importante si l'on considère les femelles issues par parthénogénèse d'une même femelle d'origine bisexuée.

Nous pouvons maintenant examiner rapidement les principales propriétés des souches qui ont servi de base à l'étude embryologique et cytologique. Le principal travail a porté sur les deux souches O_8 et N_4 qui présentent un maximum d'éclosions parthénogénétiques et une grande régularité. De plus, comme le montre le tableau XII, elles diffèrent très nettement au point de vue de la durée de la vie embryonnaire, la souche O_8 étant de type normal à cet égard (durée de vie embryonnaire d'environ 56 jours), alors que la souche N_4 demande pour son développement un temps beaucoup plus long (environ 64 jours).

Les autres souches conservées présentent toutes des caractéristiques un peu particulières. Ainsi, pour L_2 qui donne comme les deux souches précédentes un fort pourcentage d'éclosions, la parthénogénèse est cependant un peu moins régulière, le taux d'éclosions ayant tendance à s'abaisser sitôt que le contrôle des conditions de l'élevage se relâche un peu. La souche O_3 dont le taux d'éclosions se rapproche beaucoup de celui de L_2 et présente lui aussi une certaine irrégularité offre deux caractéristiques sur lesquelles nous aurons à revenir : la durée de développement y est un peu plus faible que la normale (53 jours environ) et surtout les larves fraîches écloses sont très fragiles. Nous avons déjà dit que la viabilité des larves est une caractéristique difficile à définir d'une manière précise, mais ici, en élevage normal, leur mortalité au premier stade est telle que la conservation de la souche en est parfois délicate.

Avec la souche L_3 , le taux d'éclosions baisse sensiblement par rapport aux souches que nous venons d'examiner. Il est assez variable mais normalement voisin de 50 o/o. De plus, l'ouverture des œufs non éclos révèle la présence d'un fort pourcentage d'œufs où l'embryon s'est bien développé, pratiquement jusqu'à son achèvement, mais où la larve est morte au moment d'éclore. Ces œufs forment en moyenne environ 30 o/o de la ponte totale.

Enfin, je dois insister un peu plus longuement sur la souche M_1 . Au cours de l'étude des premières générations, je me suis aperçu que, si pour les souches O_3 et N_4 et généralement pour les souches présentant un fort taux d'éclosions, il n'y avait que très peu de variations au cours des générations successives, il en va différemment pour les souches O_2 et M_1 qui donnent relativement peu d'éclosions (tableau IX). C'est pour ces deux souches en particulier que l'on pourrait parler de l'abaissement du rendement de la parthénogenèse, phénomène signalé à plusieurs reprises par les auteurs et qui fréquemment leur a interdit de pousser l'élevage au delà de la 3^e ou 4^e génération. C'est d'ailleurs ce qui s'est produit ici pour la souche O_2 .

Ayant pu conserver la souche M_1 qui donnait au départ un peu plus d'éclosions parthénogénétiques, j'ai cherché à me rendre compte des causes de cette variabilité. Les premiers facteurs possibles à envisager sont évidemment de faibles variations des conditions d'élevage. Je n'ai pas réussi à mettre ici en évidence un facteur saisonnier, dû comme nous l'avons déjà dit aux variations des qualités nutritives de la ronce utilisée. Par contre, la température à laquelle les œufs sont conservés pendant les tout premiers jours qui suivent la ponte joue un rôle considérable. Nous reviendrons ultérieurement sur ce rôle de la température dans les phénomènes cytologiques de la parthénogenèse, mais nous pouvons dès maintenant citer deux expériences qui montrent l'influence de ce facteur dans le cas de la souche M_1 .

On peut recueillir les œufs pondus dans les cages d'élevage à 23° chaque jour, tous les deux jours, tous les trois jours ou toutes les semaines. On les porte ensuite comme nous l'avons dit, à 27°. Si l'on sépare les résultats obtenus dans ces différents cas, sur les mêmes femelles, à la même époque, on obtient les chiffres suivants :

Œufs recueillis sur	Nombre d'œufs	Nombre d'éclosions	Pourcentage d'éclosions
1 jour	1.155	828	72 o/o $\pm$ 2,6
2 jours	261	192	73,5 o/o $\pm$ 5,5
3 jours	1.313	745	57 o/o $\pm$ 2,7
7 jours	1.337	309	23,1 o/o $\pm$ 2,3

Il est évident que les chiffres assez variables obtenus en 3^e, 4^e et 5^e générations où l'on avait recueilli les œufs, tantôt sur trois jours, tantôt sur une semaine, sont sans doute attribuables à ce facteur. Les résultats ci-dessus sont ceux de la 6^e génération. Dans le but de serrer le phénomène d'un peu plus près, j'ai fait sur les œufs pondus par la 7^e génération une expérience un

peu différente. On prélève cette fois les œufs tous les jours, mais on les laisse ensuite plus ou moins longtemps à 23° avant de les porter à 27°. J'ai alors obtenu les résultats suivants :

Durée du séjour à 23°	Nombre d'œufs	Nombre d'éclosions	Pourcentage d'éclosions
6 jours	66	18	27 0/0
5 jours	81	20	25 »
4 jours	61	17	28 »
3 jours	139	39	28 »
2 jours	70	28	40 »
1 jour	63	27	43 »
0 jour	77	45	68 »

On retrouve donc une variation du même type que pour l'essai fait en 6^e génération, le pourcentage d'éclosions augmente considérablement si l'œuf est porté à 27° aussitôt après la ponte. Nous reviendrons ultérieurement sur l'interprétation de ce fait. Il faut pourtant signaler que des essais du même type faits sur les autres souches n'ont donné aucun résultat marquant. Les pourcentages d'éclosions parthénogénétiques y semblent pratiquement indépendants de la température à laquelle se déroulent les premières phases du développement de l'œuf, tout au moins pour des variations assez faibles de celle-ci.

Au terme de cette étude des caractéristiques biologiques de la parthénogénèse de *Clitumnus extradentatus*, on peut donc dire que l'on est parvenu à établir différentes souches parthénogénétiques dont certaines présentent une parthénogénèse absolument facultative et relativement indépendante des conditions externes, et d'autres où la parthénogénèse est beaucoup moins régulière et semble se trouver davantage sous la dépendance de facteurs externes. Si l'on tient compte du fait que le tableau fourni par les différentes souches isolées pour le travail cytologique ne représente pas du tout à cet égard la variabilité maximum (en effet beaucoup de femelles de 2^e génération parthénogénétique n'ont eu que quelques descendants et certaines n'ont même donné aucune éclosion), on doit considérer que l'on peut obtenir chez *Clitumnus extradentatus* tous les intermédiaires entre une parthénogénèse facultative et une parthénogénèse tout à fait accidentelle. Ce fait montre bien qu'il ne doit pas y avoir chez les Phasmides de différence fondamentale entre les deux types de parthénogénèse. Tout au plus peut-on concevoir que, dans certaines espèces, il soit beaucoup plus difficile d'isoler des souches purement parthénogénétiques. Un autre fait important qui ressort de cette étude est la grande influence de variations relativement faibles des facteurs externes sur la parthénogénèse et ceci pourra nous permettre d'envisager l'action des facteurs climatiques et donc de tenter une explication des cas de parthénogénèse géographique. Mais il est évident qu'une telle discussion doit se trouver plus fructueuse à la suite de l'étude du développement embryonnaire et des faits cytologiques de la parthénogénèse.

CHAPITRE III

ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE COMPARÉ
DES ŒUFS FÉCONDÉS ET DES ŒUFS VIERGES

Nous avons vu que la principale caractéristique permettant de distinguer les œufs vierges des œufs fécondés est le retard à l'éclosion d'une douzaine de jours que présentent très généralement les premiers par rapport aux seconds. Le seul écart vraiment notable à ce fait est celui de la souche N_4 qui se caractérise par un développement embryonnaire encore plus lent. On peut se demander *a priori* si cet allongement du développement embryonnaire se répartit uniformément sur toutes les phases de l'embryologie, ou si, au contraire, il n'existe pas une phase initiale portant, soit uniquement sur les divisions de maturation, soit sur une partie plus étendue du développement, où l'œuf vierge prendrait un retard considérable correspondant à la régulation de son nombre de chromosomes, ou à la mise en route de la première division. Cette régulation faite, l'embryon issu de l'œuf vierge pourrait se développer d'une manière tout à fait analogue à celui qui se forme dans l'œuf fécondé et donc à la même vitesse. C'est dans le but de voir s'il n'était pas possible de caractériser ainsi une phase spéciale de développement pour l'œuf vierge que j'ai entrepris cette étude embryologique. Il se trouve que les différences constatées, si l'on ne considère que les souches dont la durée de développement est normale, sont surtout des différences de temps. Nous insisterons donc surtout dans l'étude du développement des œufs fécondés, que nous ferons d'abord, sur la chronologie de ce développement. Mais, pour la souche N_4 , les premiers stades de l'embryologie peuvent présenter de nombreuses aberrations; il sera donc nécessaire de fixer les grandes lignes du développement normal avant de les étudier.

I. — Etude du développement des œufs fécondés.

Il n'est pas question d'envisager ici l'ensemble des faits embryologiques mais plutôt d'établir une chronologie précise des principaux, dans les conditions particulières d'incubation où je me suis placé. En effet, l'embryologie des Phasmes est bien connue, surtout d'après les travaux effectués sur l'œuf de *Carausius morosus* par HAMMERSCHMIDT (1910), LEUZINGER, WILSMANN et LEHMANN (1926) et THOMAS (1936) ainsi que CAPPE DE BAILLON (1940). D'autres travaux ont porté sur l'œuf de *Bacillus rossii* (HEYMONS, 1897), de *Menexenus semiarmatus* et *Clitumnus artemis* (CAPPE DE BAILLON, 1928) et de *Bacillus libanicus* (MOSCONA, 1950).

L'étude que j'ai pratiquée découle d'observations faites sur deux types de préparations. Les premières sont des préparations *in toto* colorées, soit au carmin de Grenacher suivant la technique indiquée par CAPPE DE BAILLON, soit

au Feulgen qui donne des préparations plus claires et se conservant mieux. En effet, jusqu'à un âge assez avancé, en tout cas supérieur à ce qu'il était utile de considérer ici, il est facile de traiter l'œuf comme un tout, après fixation et enlèvement des chorions externe et interne, par l'un des deux colorants, et de ne détacher l'embryon du vitellus sur lequel il repose qu'aux toutes dernières phases du montage dans le baume (premier bain de toluène). Le deuxième type de préparations est constitué par des coupes longitudinales ou transversales d'embryon colorées par les méthodes histologiques courantes. La plupart du temps les coupes intéressent seulement l'embryon détaché du vitellus après fixation. Il est alors plus facile de pratiquer une double inclusion gélose-paraffine. Cependant, en particulier pour les stades très jeunes, il peut être intéressant de conserver les relations de l'embryon avec le vitellus et de couper l'œuf dans son entier. J'ai essayé pour cela différentes techniques mais celle qui m'a donné les meilleurs résultats est la fixation au Bouin ou au Petrunkiewitz, suivie d'une inclusion à la paraffine où l'on réduit au minimum le temps des bains de paraffine.

Nous allons maintenant suivre les principaux faits de l'embryologie des œufs fécondés. Les tout premiers stades de la segmentation sont difficiles à observer et se produisent assez rapidement ; aussi les différents auteurs les ont-ils peu étudiés. D'ailleurs cette phase du développement relève plutôt de la cytologie que de l'embryologie et nous y reviendrons au chapitre suivant. Chez *Clitumnus extradentatus*, dès le premier ou deuxième jour après la ponte, on peut voir un petit nombre de noyaux de segmentation qui se trouvent répartis d'une manière lâche à la surface du vitellus suivant une calotte dorsale qui s'étend depuis le micropyle de l'œuf jusqu'au pôle postérieur (fig. 5). Ces noyaux se multiplient activement en se répandant tangentiellement à la surface du vitellus pour donner au 4^e jour un blastoderme composé d'une seule couche de cellules qui couvrent maintenant d'une façon serrée la calotte déjà définie qui constitue, pendant les premiers stades, l'aire embryonnaire. Les coupes montrent alors qu'il existe déjà, enfoncés à l'intérieur du vitellus, des noyaux beaucoup plus gros que ceux de la surface. Ce sont les vitellophages qui migrent dans le vitellus à partir de la couche superficielle (fig. 6). Après ce stade, l'évolution morphologique de l'embryon devient suffisamment rapide pour permettre une reconnaissance du stade de développement jour par jour (planches I et II).

Au 5^e jour d'incubation à 27° C, les cellules continuent à se diviser et à migrer tangentiellement à la surface du vitellus qu'elles envahissent progressivement pour donner la séreuse. Mais il apparaît dans l'aire embryonnaire vers l'arrière de celle-ci, donc près du pôle postérieur de l'œuf, deux épaississements, de chaque côté du plan de symétrie passant par le micropyle et les pôles antérieur et postérieur. Ces deux épaississements se rejoignent d'ailleurs très rapidement à l'arrière en donnant une zone en forme de V où les cellules sont serrées les unes contre les autres ; ceci constitue la première forme visible de l'embryon (planche I, fig. 1). A ce stade, on s'aperçoit en coupe qu'il n'existe pas encore de différenciation en feuillet, la bande germinative est seulement formée de cellules très serrées, les noyaux étant de ce fait décalés les uns par rapport aux autres. Par contre, les vitellophages sont maintenant plus nombreux et nettement enfoncés à l'intérieur du vitellus.

Au 6^e jour d'incubation (Planche I, fig. 2), la bande germinative s'est épaissie. La convergence des deux bras du V donne deux lobes antérieurs

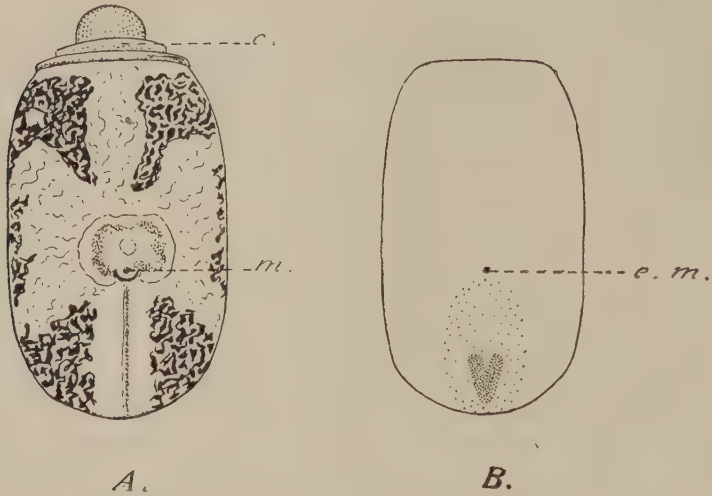


Fig. 5. — Œuf de *Clitumnus extradentatus*.

A) vue externe : *m.*, micropyle; *c.*, clapet d'ouverture par lequel se fait l'éclosion (pôle antérieur); B) Œuf fixé débarrassé de ses enveloppes : *e.m.*, emplacement du micropyle. La zone de pointillé léger indique la répartition des noyaux à la surface du vitellus lors de la segmentation, celle en pointillé serré, l'emplacement où apparaît la bandelette germinative ($\times 18$).



Fig. 6. — Coupe passant par la zone de segmentation d'un œuf fécondé après 4 jours d'incubation.

c.h., chorion interne; *c.*, cytoplasme périphérique du pôle postérieur de l'œuf où se fait la multiplication des noyaux; *v.*, vitellophages; *b.v.*, balles vitellines.

céphaliques et vers l'arrière un lobe unique plus allongé constitue l'ébauche du futur thorax. On y distingue des épaissements pairs, première ébauche des appendices thoraciques. A l'extrémité postérieure un épaissement cor-

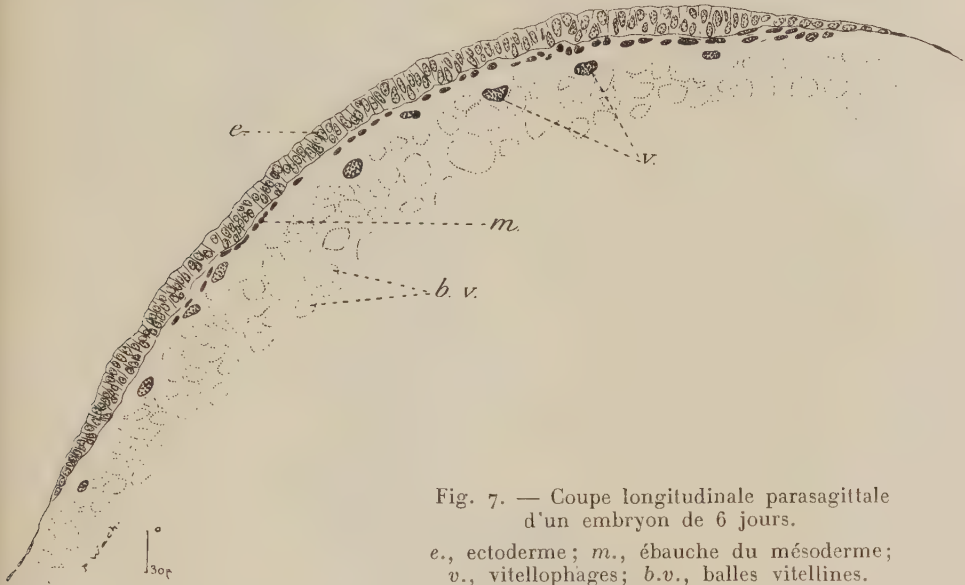


Fig. 7. — Coupe longitudinale parasagittale d'un embryon de 6 jours.

e., ectoderme; *m.*, ébauche du mésoderme; *v.*, vitellophages; *b.v.*, balles vitellines.

respond à la zone de croissance de la bande germinative. Enfin, suivant le plan de symétrie il existe une ligne plus claire correspondant à une fente gastrulaire virtuelle (THOMAS, 1936). Dès ce stade, les coupes montrent la

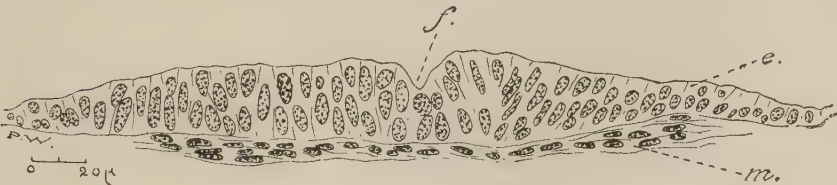


Fig. 8. — Coupe transversale au niveau de la région thoracique d'un embryon de 7 jours.

f., fente gastrulaire virtuelle où se fait la migration en profondeur des futures cellules mésodermiques; *e.*, ectoderme; *m.*, mésoderme.

présence de deux feuillets : le feuillet externe (ectoderme primitif) assez épais et le feuillet interne (mésoderme) sous forme d'une mince lame de cellules tendue dans la région thoracique entre l'ectoderme et les vitellophages (fig. 7 et 8).

Aussitôt après, pendant que la bandelette germinative commence à s'allonger postérieurement, on peut noter la première apparition des deux enfonce-

ments stomodéal et proctodéal de l'ectoderme (7 jours). En profondeur, au niveau de ces deux enfoncements, la couche des cellules mésodermiques est



Fig. 9. — Coupe longitudinale parasagittale d'un embryon de 15 jours.

A_1 à A_{11} , sacs coelomiques successifs de l'abdomen; *i. p.*, invagination proctodéale; *a.*, amnios; *e.*, ectoderme; *g.*, ébauche génitale. La figure montre comment se fait le repliement de l'embryon au niveau du 7^e segment abdominal.

un peu plus épaisse, marquant les premières ébauches de l'endoderme. Pendant un certain temps, les cellules endodermiques très discrètes vont coiffer les deux invaginations ectodermiques, ébauches du stomodeum et du proctodeum et ce n'est que plus tard, après la formation de tous les métamères de

l'embryon, qu'elles se développeront en une couche continue, ébauche de l'intestin moyen primitif.

Les modifications qui vont maintenant nous permettre de dater les embryons sont assez complexes. Elles comportent :

1. Un allongement de la bandelette germinative vers l'arrière, qui constitue progressivement l'abdomen.

2. L'apparition des sacs cœlomiques, les premiers apparus étant ceux du thorax (8^e jour), puis ceux de la tête et enfin ceux de l'abdomen en allant progressivement de l'avant vers l'arrière.

3. La constitution des ébauches des appendices qui se différencient dans le même ordre que les sacs cœlomiques.

4. La courbure qui va ramener toute la partie terminale de l'abdomen au-dessus de sa région moyenne (fig. 9).

Pendant toute la période que nous venons d'envisager, il se produit un

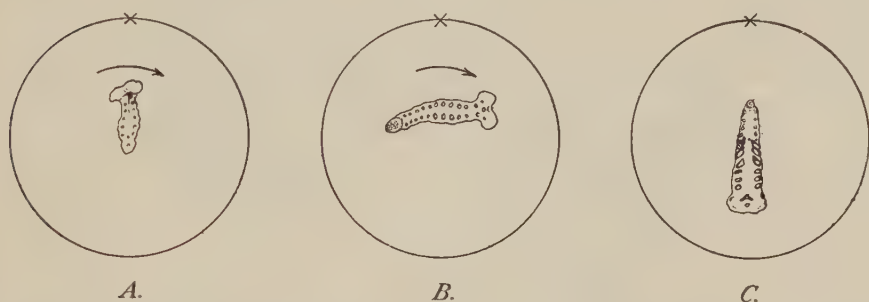


Fig. 10. — Mouvement de rotation de l'embryon autour du pôle postérieur de l'œuf. La croix supérieure marque le côté dorsal de l'œuf (micropyle), le pôle postérieur occupe le centre du cercle.

A, position de départ (incubation : 8 jours); B, position intermédiaire (10 jours environ); C, position terminale (12 jours).

retournement de l'embryon qui pivote autour du pôle postérieur de l'œuf (situé à peu près au niveau des premiers métamères de l'abdomen). Si l'on regarde l'œuf par son pôle postérieur, ce mouvement se fait dans le sens contraire des aiguilles d'une montre, l'amplitude totale étant de 180°, et amène la queue de l'embryon au voisinage du micropyle de l'œuf, alors que la tête se trouve maintenant sur la face opposée (fig. 10). Ce mouvement qui s'amorce vers le 7^e jour et se termine vers le 11^e ou 12^e ne se déroule pas avec la même rapidité dans tous les œufs. Je n'ai donc pas pu en tenir compte dans la chronologie du développement et ce sont uniquement les phénomènes envisagés auparavant qui servent de repères.

De plus, vers le 8^e jour d'incubation, la ligne médiane de l'embryon se creuse au niveau du thorax d'une petite gouttière au fond de laquelle apparaissent les neuroblastes, grosses cellules qui se différencient à partir de l'ectoderme et vont successivement détacher vers l'intérieur les cellules nerveuses primitives réparties par paquets représentant l'ébauche des ganglions thoraciques. Le phénomène se poursuit ensuite vers l'avant, en amenant la formation

des ganglions céphaliques et enfin se complète progressivement vers l'arrière. Vers le 12^e jour, l'embryon possède ainsi la totalité des ébauches de ganglions nerveux (fig. 11).

A partir du 13^e jour, l'embryon commence à s'enfoncer dans le vitellus. Ce mouvement s'accompagne de la croissance d'un repli de la séreuse qui tend à recouvrir l'embryon de toutes parts et dont la soudure sur la ligne médiane fournit les deux enveloppes embryonnaires : séreuse externe et amnios interne. La cavité amniotique se remplit alors progressivement d'un liquide qui devient opaque à la fixation et exige à partir de ce stade une dissection assez délicate avant le montage *in toto* des embryons.

Les changements morphologiques externes se font ensuite beaucoup plus

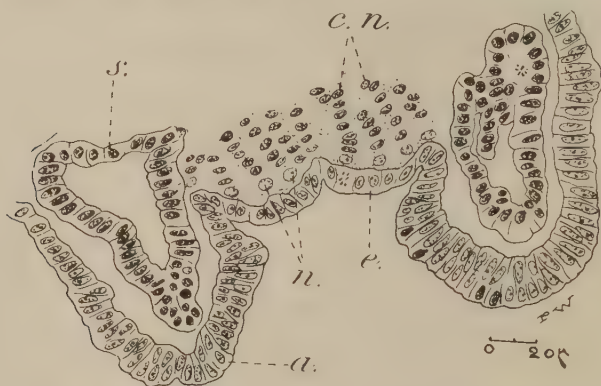


Fig. 11. — Coupe transversale au niveau du thorax d'un embryon de 11 jours montrant la formation d'une paire de ganglions nerveux.

s., sac coelomique; a., ébauche d'appendice; e., ectoderme; n., neuroblastes; c.n., cellules nerveuses embryonnaires.

lents et ne peuvent servir à l'établissement d'une chronologie aussi stricte. Il se trouve, d'ailleurs, comme nous le verrons par la suite, que le repérage de stades plus âgés s'est révélé inutile. L'échelle de développement que fixent les figures des planches I et II recouvre en effet la période où l'œuf vierge acquiert un retard de développement par rapport à l'œuf fécondé et par la suite l'embryon d'origine parthénogénétique ne présente plus aucun trait particulier de développement par rapport à l'embryon d'origine bisexuée.

Nous allons maintenant nous servir de la chronologie que nous venons d'établir pour comparer le développement des œufs vierges à celui des œufs fécondés.

II. — Etude du développement des œufs vierges des souches présentant un retard normal à l'éclosion.

La plupart des souches parthénogénétiques présentent un retard à l'éclosion d'une douzaine de jours. Je n'ai fait l'étude embryologique complète que pour la souche O₅ qui présente l'avantage de donner un pourcentage d'éclo-

sions voisin de 90 0/0 ; ce fait nous permet d'écarter une critique, toujours possible dans le cas de parthénogénèses plus ou moins accidentelles. En effet, les faits embryologiques anormaux constatés sur les préparations peuvent alors correspondre à des embryons engagés sur une mauvaise voie et qui seraient morts à une échéance plus ou moins lointaine si l'on n'avait pas interrompu leur développement par la fixation.

L'échelle de développement que nous venons de définir a l'avantage de nous permettre un repérage très précis de l'état d'évolution d'un embryon quelconque par la simple ouverture d'œufs datés, fixés 24 heures auparavant. Dans la plupart des cas, il suffit d'observer à la loupe binoculaire l'embryon opacifié par le fixateur pour pouvoir lui attribuer sans équivoque un état d'évolution, pourvu que celui-ci corresponde à l'un de ceux que l'on constate chez l'œuf fécondé entre 5 et 15 jours d'incubation à 27°. L'établissement du stade d'évolution (chiffré en nombre de jours d'incubation nécessaire à un œuf fécondé pour atteindre le même stade) va donc nous permettre, pour chaque durée d'incubation, d'établir le retard moyen de développement des œufs parthénogénétiques. Naturellement, pour que de telles moyennes aient une signification, il faut opérer sur un assez grand nombre d'œufs. J'en ai le plus souvent ouvert une centaine.

Notons que dans tous les cas, si l'on ouvre des œufs parthénogénétiques de la souche O₅ au bout de 3 ou 4 jours d'incubation, on y constate l'existence de noyaux répartis sur la calotte à laquelle nous avons donné le nom d'aire embryonnaire. Les cellules y sont toutefois un peu moins abondantes que dans les œufs fécondés pour une durée d'incubation égale et nettement plus petites. Mais de toute façon, le retard accumulé par les œufs parthénogénétiques est à ce moment très faible (au maximum de l'ordre de 1 jour) bien qu'il soit difficilement appréciable. Ce n'est donc que par la suite qu'apparaîtra le retard caractéristique. Par contre, ce retard devient extrêmement important sitôt qu'apparaissent les premiers embryons auxquels leur forme extérieure permet d'attribuer un stade dans notre échelle des temps de développement. En effet, les premiers embryons visibles à la loupe binoculaire n'apparaissent dans la souche O₅ que vers 13 jours d'incubation.

J'ai étudié systématiquement ce retard entre 17 et 26 jours d'incubation. Les graphiques de la figure 12 donnent les résultats de cette étude sous forme d'histogrammes (en abscisses, l'état d'évolution chiffré par le nombre de jours d'incubation nécessaire à un œuf fécondé pour atteindre le stade observé et en ordonnées, le nombre d'œufs qui présentaient ce stade dans le lot analysé). Pour la commodité de la représentation, on a groupé dans ces graphiques, d'une part les œufs qui présentaient un état de développement inférieur à 5 jours et d'autre part, ceux où il est supérieur à 14 jours. On a, de plus, distingué ceux qui ont un état de développement de 5 jours.

De l'examen de ces graphiques, nous pouvons tirer plusieurs conclusions :

1° A une durée d'incubation donnée des œufs parthénogénétiques correspondent des états d'évolution très variés qui s'étendent sur toute la gamme des stades que nous pouvons facilement dater. Le taux de variation est évidemment assez difficile à chiffrer mais nous pouvons dire qu'il est, dès ce moment, d'un ordre de grandeur comparable à celui que présentent les durées totales de développement embryonnaire pour la même souche (10 à

12 jours environ si l'on exclut une traîne d'éclosions qui porte sur quelques pour-cent des œufs seulement).

2° On constate qu'il existe dans les premiers graphiques une proportion

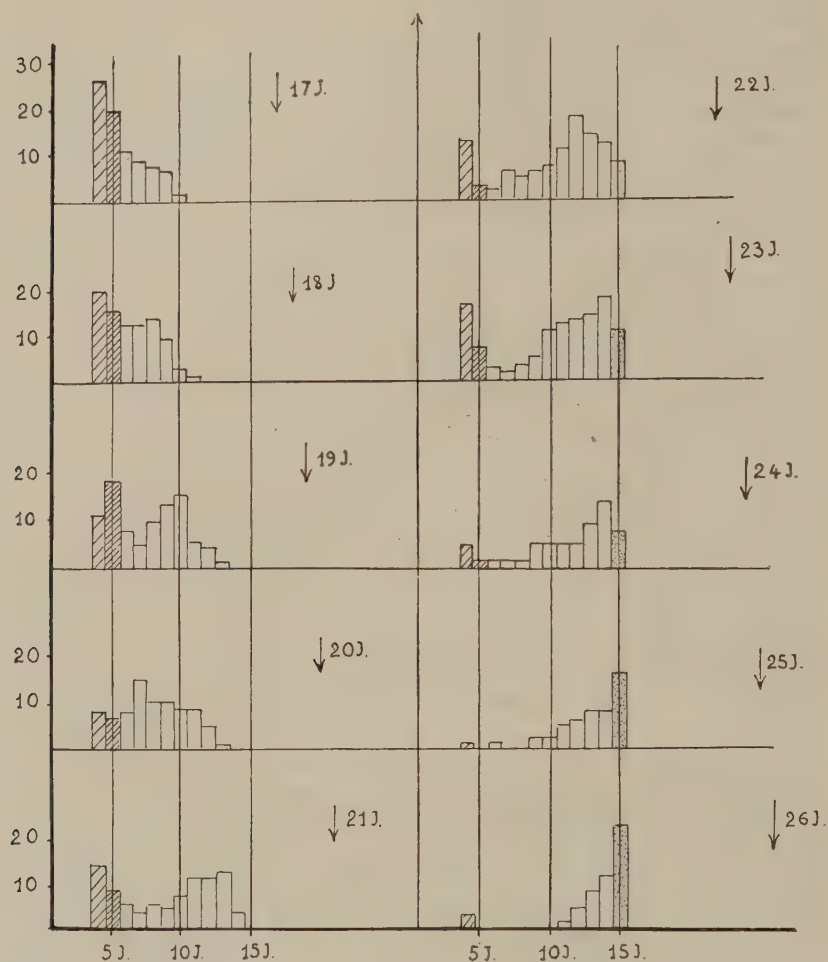


Fig. 12. — État de développement observé pour les œufs de la souche O₆. En abscisses, état d'évolution en nombre de jours d'incubation nécessaires à un œuf fécondé pour atteindre le stade observé; en ordonnées, le nombre d'œufs présentant ce stade. La flèche indique dans chaque cas l'âge des œufs et permet d'apprécier le retard de développement. En hachures lâches, œufs présentant un état de développement inférieur à 5 jours; en hachures serrées, état de développement supérieur à 14 jours; en pointillé, état de développement entre 5 et 14 jours.

anormalement élevée par rapport à une distribution normale de stades correspondant à 5 jours d'incubation pour les œufs fécondés. Tout se passe comme si ce stade, ainsi naturellement que ceux qui le précèdent, était beau-

coup plus long à franchir pour les œufs parthénogénétiques que pour les œufs fécondés.

3° On peut calculer approximativement un retard moyen du développement en utilisant pour cela les graphiques où n'existent pas encore de stades supérieurs à 14 jours et où le nombre d'œufs présentant un état de développement inférieur à 5 jours est assez faible pour qu'on considère qu'il correspond à peu près au nombre des œufs qui ne se seraient pas développés du tout. Si l'on fait par exemple ce calcul pour les œufs ouverts après une incubation de 19, 20 et 21 jours, on trouve les résultats suivants :

A 19 jours d'incubation, sur 84 œufs développés, le retard moyen calculé est de 10,9 jours ; à 20 jours, pour 74 œufs, il est de 11,6 jours et à 21 jours pour 79 œufs, il est de 11,1 jours. Soit au total, sur 237 œufs développés, un retard moyen de développement de 11,2 jours. Or, des œufs de la même souche O_5 prélevés à partir des mêmes femelles à des dates aussi voisines que possible de celle des pontes qui nous ont servi ici donnent un retard à l'éclosion par rapport aux œufs fécondés, incubés en même temps, de 11,85 jours pour 991 éclosions observées.

On peut donc dire que le retard acquis au cours du développement par les œufs parthénogénétiques de la souche O_5 , l'est pratiquement en totalité au cours des premiers stades de l'embryologie. Une fois dépassé le stade de développement de 9 à 10 jours, l'œuf parthénogénétique se développe à une cadence absolument identique à celle de l'œuf fécondé. Si l'on tient compte en plus de la deuxième remarque, nous pouvons dire que tout le retard des embryons parthénogénétiques est acquis avant qu'ils aient atteint le stade de 6 jours, donc pratiquement au cours de la segmentation et en tout cas avant la gastrulation. Cette considération nous a donc permis de délimiter la période pendant laquelle l'œuf parthénogénétique offre un comportement anormal et donc celle où peuvent se produire les phénomènes cytologiques de régulation. Notons que les faits embryologiques nous conduisent à envisager que cette régulation peut affecter toute la période de segmentation et non les seules divisions de maturation ni même uniquement les premières divisions de l'œuf.

L'examen dans les mêmes conditions du développement des œufs des autres souches parthénogénétiques qui présentent à l'éclosion un retard normal de 12 jours environ, donne des résultats analogues. Je n'ai pas fait ici l'étude pour toutes les durées d'incubation, mais seulement pour une durée de 21 jours, puisque pour la souche O_5 c'est cet âge qui nous a le mieux permis de calculer le retard moyen acquis par les œufs au cours des premiers stades du développement. Les graphiques de la figure 13 résument les résultats obtenus ; on peut y constater que les œufs à cet âge se divisent nettement en deux catégories : ceux dans lesquels on trouve un embryon auquel notre échelle de développement permet d'attribuer un stade correspondant dans le développement des œufs fécondés et ceux où aucun développement visible à la loupe binoculaire ne s'est produit. Comme précédemment, j'ai groupé ces derniers en une catégorie unique en considérant leur état de développement comme inférieur à celui qu'atteignent les œufs fécondés au bout de 5 jours d'incubation. En effet, si l'on monte *in toto* la calotte correspondant à l'aire embryonnaire de certains de ces œufs, on peut presque toujours découvrir au moins quelques noyaux à la surface de cette calotte.

Notons d'ailleurs que le pourcentage de cette catégorie correspond à peu près dans les différentes souches utilisées à celui des œufs que nous devrions retrouver non développés au bout de trois mois d'incubation, comme nous l'avons dit plus haut. Ainsi, il est beaucoup plus abondant pour la souche M_1 que pour les autres et c'est précisément cette souche qui donne le plus fort pourcentage d'œufs dont le développement s'arrête avant la constitution d'un blastoderme. Cette considération nous permet, comme nous l'avons fait pour la souche O_5 , de ne tenir compte dans le calcul du retard moyen que des œufs dont nous pouvons dater l'état d'évolution.

Si l'on compare ce retard moyen avec celui que l'on constate pour les mêmes souches à l'éclosion, on se trouve dans une situation à peu près analogue à

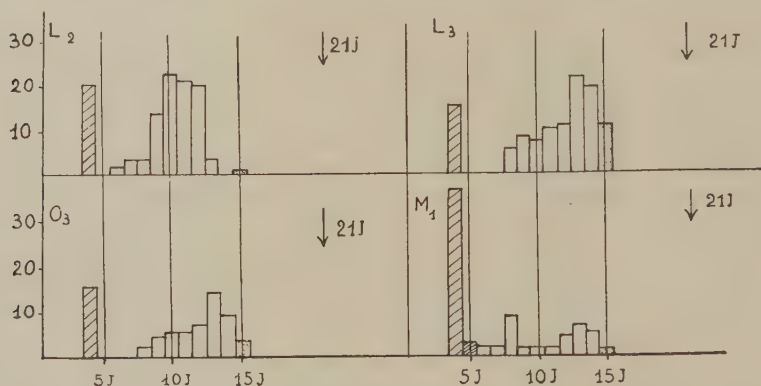


Fig. 13. — État de développement observé au bout de 21 jours d'incubation pour les œufs de différentes souches parthénogénétiques (mêmes conventions que dans la figure 12).

celle que l'on a mise en évidence pour la souche O_5 . Ainsi, les deux retards calculés sont, pour la souche L_2 respectivement de 10,5 jours et 12,4 jours et pour la souche L_3 de 8,9 et 11,5 jours. Pour la souche O_3 , nous avons déjà dit que le retard à l'éclosion était un peu plus faible et les chiffres obtenus sont 9,0 jours d'après le graphique et 8,7 à l'éclosion. Pour la souche M_1 le petit nombre d'œufs développés rend plus difficile le calcul mais les résultats seraient à peu près du même ordre. Pour ces quatre souches, on peut donc dire que, comme pour la souche O_5 , le principal retard s'acquiert au cours de la segmentation.

Nous allons voir qu'il n'en est plus de même pour la souche N_4 dont nous avons déjà dit qu'elle présente un retard à l'éclosion beaucoup plus considérable.

III. — Étude du développement des œufs vierges de la souche N_4 .

J'ai fait pour cette souche une étude analogue à celle déjà décrite de O_5 . On a ouvert un lot de 50 à 100 œufs de cette souche pour chaque durée d'incubation entre 20 et 27 jours afin de leur attribuer un état de développe-

ment comme précédemment. Les graphiques de la figure 14 résument les résultats obtenus. On constate que dès le 20^e jour le nombre d'œufs ne présentant pas d'embryon visible est faible. Par contre, le nombre d'embryons correspondant au stade 5 jours est extrêmement élevé et d'après les graphiques on voit que c'est à partir de cette catégorie que vont progressivement et assez lentement apparaître les stades suivants. Beaucoup plus que pour la souche O₅



Fig. 14. — État de développement observé après différents temps d'incubation pour les œufs parthénogénétiques de la souche N₄ (mêmes conventions que dans la figure 12).

ce stade apparaît donc relativement plus long que les stades postérieurs. De plus, et nous y reviendrons tout à l'heure, les embryons de ce stade montés *in toto* apparaissent beaucoup plus épais que ceux du stade correspondant formés dans les œufs fécondés, ce qui était exceptionnel pour la souche O₅. Si nous voulons chiffrer le retard déjà acquis à ce moment de l'incubation nous pouvons utiliser les graphiques qui correspondent à 23, 24, 25 et 26 jours. On trouve alors des retards qui sont respectivement de 13,7; 13,5; 13,9 et 15,1 jours, déjà nettement plus importants que ceux que nous constatons pour les autres souches. Mais des œufs pondus par les mêmes femelles, à la même époque et incubés jusqu'à éclosion donnaient sur 1.978 œufs une

moyenne de durée de développement de 65,2 jours alors que pendant le même temps, les œufs fécondés pris pour témoins donnaient pour 1.303 œufs une durée de 46,3 jours. Le retard à l'éclosion était donc de près de 19 jours. Sans doute le démarrage un peu plus tardif de certains embryons n'ayant pas dépassé sur les graphiques qui nous ont servi de base le stade de développement 5 jours est-il responsable d'une partie du décalage que l'on constate entre les deux types de retard calculés, mais les résultats acquis doivent cependant nous faire envisager la possibilité que dans cette souche particulière les premiers stades de développement (6, 7, 8 jours par exemple) y durent aussi un peu plus longtemps que pour les œufs fécondés. Les aspects morphologiques de l'embryologie que nous allons maintenant envisager nous confirmeront d'ailleurs dans cette opinion.

En effet, alors que pour la souche O_5 , on ne peut pratiquement déceler aucune aberration visible de l'embryologie (seuls quelques embryons rentrant dans la catégorie 5 jours ont une bande germinative nettement plus épaisse que la normale), on constate presque toujours des aberrations beaucoup plus fortes dans la souche N_4 . Ces anomalies offrent toujours l'aspect suivant : l'ectoderme des embryons (stades 5, 6 ou 7 jours) est beaucoup plus épais que celui des embryons fécondés au même stade (planche III, photos 1, 2, 3, 4). En coupe on constate sur les embryons auxquels leur forme extérieure fait attribuer un état d'évolution de 6 ou 7 jours, une absence totale de mésoderme alors que le feuillet unique présente plusieurs épaisseurs de cellules et souvent un début d'invagination au niveau des futurs stomodeum ou proctodeum. Mais beaucoup plus remarquable est l'existence en dehors des embryons arrivés à des stades 8, 9 ou 10 jours, d'un tissu embryonnaire extrêmement riche en noyaux et profondément enfoncé dans le vitellus. On trouve généralement ce tissu anormal au voisinage du pôle postérieur de l'œuf donc tout à fait en dehors de l'embryon qui effectue alors son mouvement de rotation tel que le montre la figure 10. J'avais pensé tout d'abord à la possibilité d'interpréter cette formation manifestement abortive (on se rend compte en coupe ou à l'écrasement que presque tous les noyaux y sont pycnotiques) comme un deuxième embryon supplanté par le premier et en train de dégénérer. On a en effet décrit chez les *Phasmoda* de nombreux cas de téragénèse portant en particulier sur un dédoublement plus ou moins accentué de la tête et pouvant aller jusqu'à l'existence de deux têtes parfaitement constituées (CAPPE DE BAILLON, 1927, 1931). Cet auteur interprète ces formations doubles comme dérivant de la fusion incomplète de deux embryons séparés au départ. Je me suis donc livré à une étude complète du phénomène. Il se présente en réalité de la façon suivante qu'illustrent les figures 15, 16, 17. Au début du développement, les noyaux se multiplient et se répandent à la surface de l'aire embryonnaire exactement de la même manière que pour les œufs fécondés, mais toutefois plus lentement, puisque ce sont des œufs incubés 7 jours qui nous donnent une couche unique de noyaux ce qui correspondrait pour un œuf fécondé à une incubation de 3 à 4 jours. Mais dans la suite du développement, il y a altération de la synchronie entre les divisions cellulaires et les mouvements morphogénétiques, amenant d'abord à la délimitation de la bande germinative puis à la constitution de l'entomésoderme. La multiplication cellulaire se poursuit et des noyaux s'en vont coloniser le

vitellus de plus en plus profondément, la bandelette germinative se constitue beaucoup plus lentement et on arrive vers 11 à 12 jours d'incubation à l'aspect que représente la figure 15, c'est le phénomène que nous avons décrit sous le nom d'épaississement de la bandelette. Il n'existe ici aucune différenciation de mésoderme ; le contour extérieur de la bandelette est régulièrement elliptique ou présente un début de formation des lobes céphaliques. C'est alors que le développement devient franchement aberrant, l'épaississement de la bandelette se poursuit démesurément, les cellules s'enfonçant de plus en plus profondément dans le vitellus, à la faveur, semble-t-il, d'une part, des multiplications cellulaires mais aussi d'invaginations parties des régions proctodéale et stomodéale qui arrivent à donner à l'intérieur des aspects de

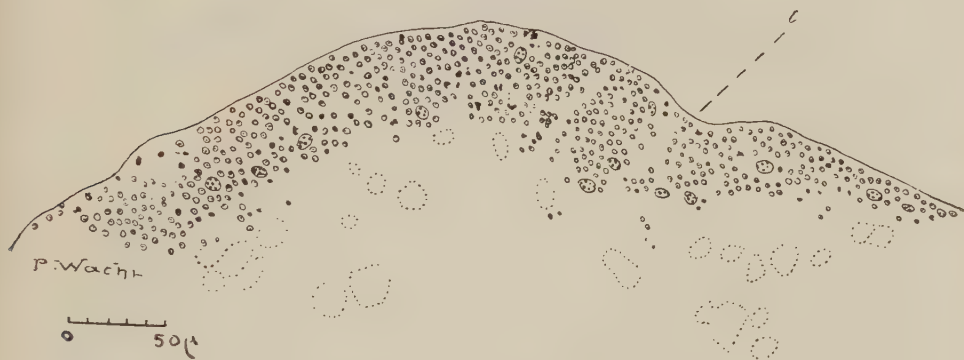


Fig. 15. — Coupe longitudinale d'un œuf vierge de la souche N_4 après 13 jours d'incubation, au niveau de la bandelette germinative.

i., début d'invagination proctodéale. Noter l'épaississement de la bandelette par rapport à celle d'un œuf fécondé parvenu au même stade d'évolution (fig. 7), ainsi que l'absence totale de mésoderme individualisé.

vésicules plus ou moins nettes (fig. 16). Ce stade correspond à une durée d'incubation de 13 à 14 jours en moyenne, mais il existe une amplitude de variation assez forte entre les différents œufs. Déjà certaines des cellules profondes subissent une dégénérescence pycnotique. Un peu plus tard cette dégénérescence devient très importante et seule y échappe une couche unicellulaire périphérique (fig. 17; planche III, photos 5 et 6). Par la suite, l'embryon vrai va se constituer uniquement à partir de cette couche périphérique, indépendamment des cellules enfoncées dans le vitellus pourtant beaucoup plus nombreuses mais qui vont toutes dégénérer. En effet, comme dans l'embryologie normale, la couche périphérique va s'épaissir, et le mésoderme se constituer au-dessous d'elle, mais au-dessus de tout le tissu enfoncé dans le vitellus qui est maintenant en pleine dégénérescence (fig. 18). On trouve à leur place normale, c'est-à-dire immédiatement sous le mésoderme de gros vitellophages qui dissolvent le vitellus sous-jacent et vont permettre à l'embryon de commencer, lorsqu'il atteint la différenciation morphologique correspondant au stade d'évolution 8 jours, son mouvement de rotation autour

du pôle postérieur de l'œuf. C'est ce mouvement qui détache définitivement l'embryon des tissus enfoncés dans le vitellus qui disparaîtront d'ailleurs bientôt sans laisser de traces.

Il semble donc qu'au début de leur développement les œufs parthénogéné-



Fig. 16. — Coupe longitudinale d'un œuf vierge de la souche N_4 après 13 jours d'incubation présentant un état d'évolution un peu plus avancé que celui de la figure 15. Noter l'accroissement de la masse de tissu interne, la taille plus importante des noyaux et le fonctionnement irrégulier de l'invagination proctodéale (*i.*).

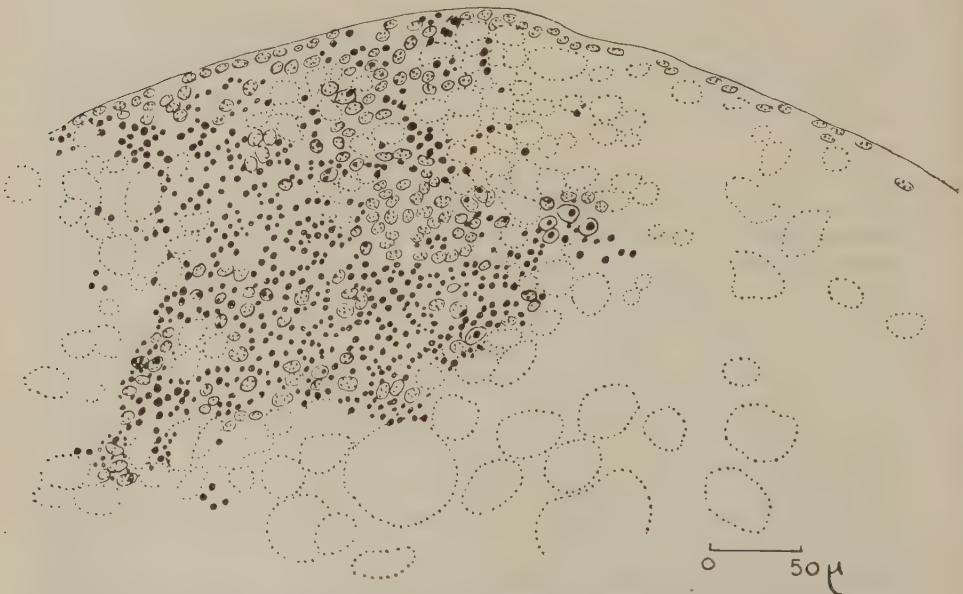


Fig. 17. — Dégénérescence du tissu interne dans un œuf vierge de la souche N_4 après 16 jours d'incubation.

tiques de la souche N_4 soient incapables d'accomplir une gastrulation normale. On aboutit alors à un tissu inorganisé qui s'enfonce dans le vitellus où il dégénérera ensuite. Pendant ce temps, la couche superficielle subit une modification profonde de ses propriétés et devient capable enfin de gastrulation ; le développement peut alors s'accomplir normalement après élimination de tout le tissu sous-jacent inutile. C'est naturellement cette phase de développement anormal qui allonge considérablement le développement des œufs de cette souche.

Les phénomènes observés dans le développement des autres souches nous

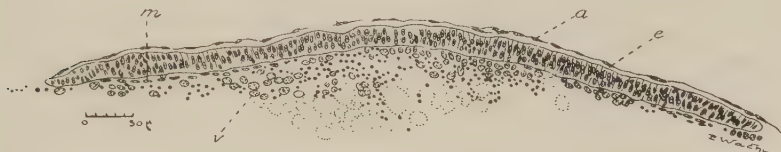


Fig. 18. — Coupe longitudinale d'un embryon prélevé sur un œuf vierge de la souche N_4 après 22 jours d'incubation (stade d'évolution : 8 jours). On notera par places l'existence sous l'ectoderme (e) de petites cellules, ébauche du mésoderme (m) et de nombreux gros noyaux vitellophages (v). Il existe encore à ce stade un grand nombre de pycnoses qui achèvent de faire disparaître le tissu interne (a , amnios).

suggéraient la possibilité d'une régulation chromosomique au cours de la segmentation. On peut se demander si la modification des propriétés de la couche cellulaire périphérique, nécessaire avant toute gastrulation, ne correspondrait pas précisément ici à cette régulation, la gastrulation ne pouvant se produire, par exemple, que lorsqu'elle serait achevée.

C'est ce problème de la régulation chromosomique que nous allons envisager dans le prochain chapitre.

CHAPITRE IV

ÉTUDE CYTOLOGIQUE DE LA PARTHÉNOGÉNÈSE

Nous avons vu, au début de ce mémoire, que nos connaissances cytologiques sur la parthénogenèse des Phasmides sont très fragmentaires, les auteurs des revues les plus récentes les jugeant incomplètes (WHITE, 1951) ou estimant que les documents cytologiques fournis sont susceptibles d'une autre interprétation (MATTHEY, 1945).

Il est à noter que, dans les cas étudiés : *Bacillus rossii* (VON BAEHR, 1907) et *Carausius morosus* (PEHANI, 1925) les auteurs travaillaient sur des souches à parthénogenèse constante où la comparaison du développement parthénogénétique avec le développement normal était impossible. En effet, PEHANI

a bien étudié la spermatogenèse de quatre mâles apparus dans ses élevages, mais ceux-ci n'étaient sans doute pas capables de féconder les femelles puisqu'ils n'ont donné aucune descendance à proportion normale des sexes. Malgré leur spermatogenèse apparemment complète, ce n'étaient probablement que des gynandromorphes ou des intersexués très masculinisés (CAPPE DE BAILLON et DE VICHET, 1940). J'ai moi-même disposé de plusieurs mâles apparents de *Carausius morosus*; tous les essais d'accouplement se sont révélés infructueux. De plus, l'étude cytologique faite sur l'un d'eux révèle une spermatogenèse abortive, la première division de maturation s'y présente normalement jusqu'à la métaphase, mais l'anaphase y est très irrégulière, certains divalents se maintenant à cet état, tandis que d'autres sont déjà séparés et leurs éléments parvenus aux deux pôles de la cellule. D'ailleurs, cette anaphase dure beaucoup plus longtemps que dans une spermatogenèse normale, en effet, la fréquence relative de ce stade est beaucoup plus grande. Du fait de ce véritable blocage à l'anaphase de la première division de maturation, les deuxième divisions sont rares et il semble que, très souvent au moins, la division cytoplasmique ait du mal à se réaliser : on aboutit alors à des paquets de spermies qui ne peuvent achever complètement leur spermiogenèse, mais d'où l'on peut voir s'échapper 3 ou 4 longs flagelles manifestant ainsi le phénomène de non-séparation. De plus, venant à l'appui de l'interprétation de CAPPE DE BAILLON et DE VICHET, les stades normaux de la spermatogenèse, divisions spermatogoniales ou première division de maturation révèlent la présence tantôt d'un élément en V, tantôt de deux qui ne s'appariaient pas à la première division de maturation et sont probablement les hétérochromosomes. On aurait alors, à proprement parler, une mosaïque de cellules mâles et femelles dans le testicule de cet individu. Enfin, les cystes polyploïdes y sont abondants et, dans le cas d'une métaphase de première division de maturation, j'ai pu constater la présence de 4 éléments en V séparés les uns des autres, donc n'ayant pas subi d'appariement ou encore ayant effectué une montée précoce aux pôles. Quoi qu'il en soit, l'étude malheureusement incomplète de ce mâle, montre bien le caractère aberrant de tels individus qui apparaissent sporadiquement dans les élevages et sont probablement des gynandromorphes.

Pour *Clitumnus extradentatus*, la comparaison des deux développements embryologiques de l'œuf fécondé et de l'œuf vierge nous a appris que ces derniers acquièrent au cours de la segmentation et des stades immédiatement postérieurs de l'embryologie, un retard de développement qui se maintiendra par la suite, mais ne s'accroîtra plus. On est donc tenté de penser que cette période où l'œuf vierge se distingue nettement de l'œuf fécondé s'accompagne de phénomènes d'ordre cytologique assurant une régulation qui permettra à l'embryon d'origine parthénogénétique, une fois franchi ce stade, de se développer d'une manière identique à celle des embryons issus d'une fécondation. C'est dans le but de vérifier une telle hypothèse que j'ai entrepris l'étude qui va suivre. Mais avant d'aborder les phénomènes cytologiques particuliers à la segmentation des œufs vierges, nous devons d'abord définir la garniture chromosomique de l'espèce.

I. — Garniture chromosomique de *Clitumnus extradentatus*.

Les différents auteurs qui ont travaillé sur les Phasmides ont utilisé pour cet établissement deux organes qui se révèlent effectivement être les plus favorables. Ce sont les testicules, si l'on dispose d'une espèce bisexuée, et d'autre part, les neuroblastes embryonnaires. Voyons rapidement quels sont les enseignements que nous pouvons tirer ici de l'étude de ces deux organes.

A. — ÉTUDE DE LA SPERMATOGENÈSE

L'étude de la spermatogenèse de nombreuses espèces de Phasmes a été faite par FAVRELLE (1934). *Clitumnus extradentatus* ne présentant aucune particularité intéressante vis-à-vis du schéma général qu'en a tracé cet auteur,



Fig. 19. — Métaphases spermatogoniales montrant l'hétérochromosome (grand métacentrique dont on n'a dessiné que le contour extérieur) et les deux petits métacentriques autosomaux (Écrasement carmin).

je me contenterai ici de mettre en lumière les principaux faits qui m'ont permis d'établir la garniture chromosomique de l'espèce. Le nombre de chromosomes étant assez élevé, les coupes histologiques donnent souvent des figures difficiles à interpréter complètement, aussi ai-je recouru le plus souvent à des écrasements des testicules colorés au carmin ou à l'orcéine acétiques à 45 o/o suivant les techniques classiques (DARLINGTON et LA COUR, 1942).

Les métaphases de mitoses spermatogoniales (fig. 19) montrent toujours 37 éléments parmi lesquels on distingue facilement un grand métacentrique, deux autres éléments métacentriques plus petits apparaissent dans certaines plaques, mais la distinction en est souvent difficile. Notons tout de suite que certains cystes en métaphase spermatogonale montrent un nombre de chromosomes beaucoup plus élevé (approximativement le double de celui des mitoses normales, planche IV, photo 4). L'existence de cystes polyploïdes dans les testicules de certains insectes est bien connue (MULNARD, 1951). Cependant, le phénomène ne semble pas être aussi important chez *Clitum-*

nus que chez la Bruche étudiée par cet auteur. Le petit nombre de cystes polyploïdes ne m'a pas permis, malgré la quantité de testicules examinés,

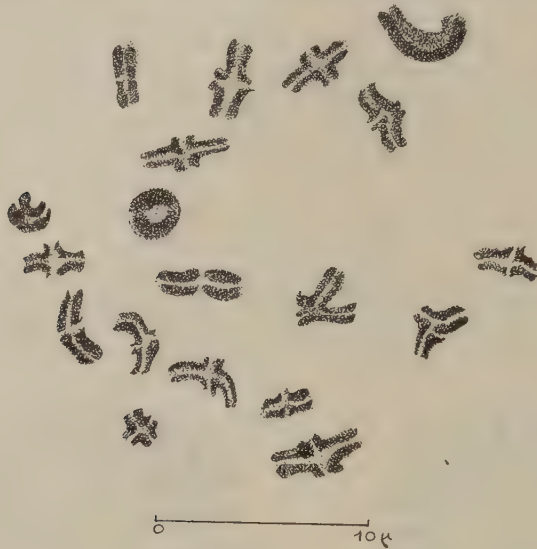


Fig. 20. — Diacinèse testiculaire montrant les 18 bivalents et l'hétérochromosome (Écrasement carmin).

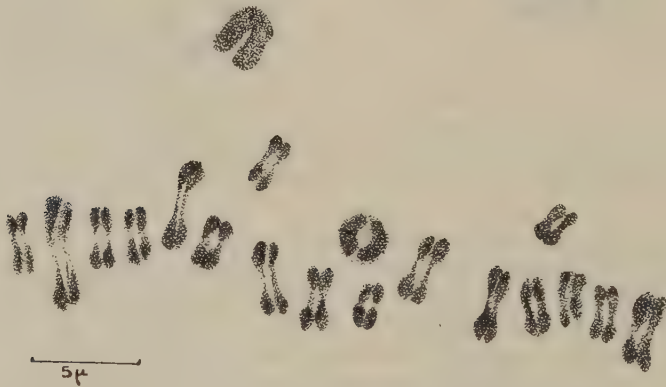


Fig. 21. — Métaphase de première division de maturation dans le testicule vue de profil montrant l'ensemble des éléments. L'hétérochromosome en V a déjà commencé son ascension vers le pôle supérieur. Noter le divalent en anneau qui correspond à la paire de petits V autosomaux (Écrasement carmin).

d'étudier leurs divisions de maturation et je ne saurais affirmer la réalité d'une éventuelle formation de spermatozoïdes diploïdes. Nous pouvons cependant retenir ce fait comme une première preuve de la facilité de la polyploïdisation dans l'espèce, puisqu'elle atteint d'une manière sporadique, même la

lignée germinale, assez tôt au cours de la vie pour avoir des cystes entiers polyploïdes.

Mais les deux stades les plus démonstratifs de la spermatogenèse sont la diacinèse (fig. 20 et planche IV, photo 1) et la métaphase de première division de maturation (fig. 21 et planche IV, photos 2 et 3). En particulier, la métaphase permet d'affirmer l'identité de l'hétérochromosome (grand métacentrique) qui précède à l'un des pôles les autres chromosomes. Ce comportement différentiel de l'hétérochromosome fait qu'il n'est pas visible sur la photographie 3, planche IV qui montre nettement les 18 bivalents; mais la photographie 2 le montre très nettement en dehors de la plaque. A ce stade, on voit que chaque bivalent ne comporte qu'un chiasma terminalisé sauf un bivalent en anneau que l'on peut mettre en évidence dans toutes les plaques et qui correspond manifestement aux deux petits V autosomiques dont nous avons déjà signalé l'existence.

Les deuxième divisions de maturation offrent un aspect tout à fait en accord avec ce que nous venons d'établir. La figure 22 (en bas) montre ainsi dans une métaphase 18 éléments dont un petit V autosomique; il n'y a pas ici d'hétérochromosome. La figure 22 (en haut) est une anaphase d'un spermatocyte avec hétérochromosome et celui-ci du fait de sa longueur plus grande est encore en position anaphasique de montée au pôle alors que les autosomes ont déjà achevé cette montée. On ne distingue pas sur cette figure, comme il arrive assez souvent, le petit V autosomique.

L'étude de la spermatogenèse nous a donc permis d'établir l'existence dans la formule chromosomique du mâle d'un hétérochromosome (grand métacentrique) et de 18 paires d'autosomes dont 17 acrocentriques et un petit métacentrique. La taille des acrocentriques varie assez sensiblement, certains étant manifestement beaucoup plus longs que d'autres, mais leur nombre est trop grand et la variation trop continue pour qu'on puisse les distinguer utilement par ce caractère de longueur. L'étude des neuroblastes embryonnaires va nous permettre de confirmer encore cette formule chromosomique.

B. — ÉTUDE DES NEUROBLASTES EMBRYONNAIRES

Les neuroblastes embryonnaires dont nous avons vu la formation au cours de l'embryologie sont particulièrement favorables à l'étude de la mitose. En effet, ces cellules sont beaucoup plus grandes que les cellules embryonnaires



Fig. 22. — Deuxième division de maturation. *En bas* : métaphase sans hétérochromosome (18 éléments dont un petit métacentrique); *en haut* : anaphase avec l'hétérochromosome en grisé; on ne distingue pas le petit autosome en V (Écrasement carmin).

avoisinentes, elles se divisent très fréquemment et, de plus, la plaque métaphasique s'y forme d'une manière relativement lente, si bien qu'on dispose au début de la métaphase de plaques d'une taille exceptionnelle et où les chromosomes sont peu condensés (fig. 23). Il s'agissait ici d'un embryon mâle et l'on reconnaît facilement le grand hétérochromosome et les deux autosomes en V. La figure 24 représente une métaphase un peu plus condensée d'un neuroblaste où l'on reconnaît cette fois deux hétérochromosomes et les deux V autosomiques. Il s'agit cette fois d'un stade un peu plus tardif de la métaphase et d'une cellule qui appartenait manifestement à un embryon

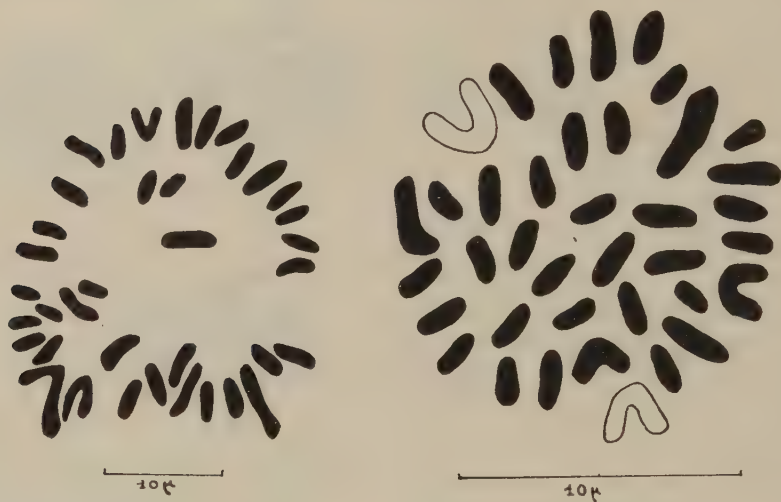


Fig. 23 (à droite) et 24 (à gauche). — Métaphases de neuroblastes embryonnaires. Dans la figure 23 provenant d'un embryon mâle, on distingue facilement l'hétérochromosome (grand V) et les deux autosomes métacentriques. Dans la figure 24 provenant d'un embryon femelle, on n'a dessiné que le contour extérieur des deux hétérochromosomes (Écrasements carmin).

femelle puisque toutes les plaques visibles de l'écrasement montraient deux grands métacentriques.

L'établissement de la formule chromosomique de l'espèce va maintenant nous permettre d'étudier utilement la cytologie de la parthénogenèse. Mais avant d'exposer les résultats de cette étude, nous allons indiquer rapidement les méthodes utilisées. En effet, il a été nécessaire d'adapter les méthodes classiques aux circonstances un peu particulières dans lesquelles je me suis trouvé devoir opérer. Nous avons déjà dit que le nombre de chromosomes est trop important pour permettre d'interpréter à coup sûr les figures obtenues en coupe ; c'est la principale difficulté à laquelle se sont heurtés les différents auteurs et qui explique la diversité des interprétations que l'on peut faire sur une même figure.

II. — Méthodes utilisées pour l'étude de la régulation chromosomique.

J'ai employé concurremment deux types de méthodes très différents. Les méthodes par écrasement permettent de placer tous les chromosomes à peu près dans un même plan et dans beaucoup de cas d'éviter totalement les superpositions. Bien entendu, la vision du phénomène dans l'espace reste souvent indispensable et j'ai eu recours alors à des coupes soit, pour les premiers stades, d'œufs dont on a retiré simplement la coquille externe, soit, pour les stades plus avancés, d'embryons séparés du vitellus après fixation de l'œuf. L'autre méthode employée concerne non pas l'examen du nombre des chromosomes et de leur aspect, mais la mesure de la quantité d'acide désoxyribonucléique contenue dans chaque noyau pris individuellement par des moyens histophotométriques. Nous donnerons successivement quelques détails pour ces deux méthodes.

1. — *Préparations par écrasement.*

La méthode d'observation des chromosomes par écrasement entre lame et lamelle après gonflement des tissus dans une solution d'acide acétique contenant un colorant nucléaire est bien connue (DARLINGTON et LA COUR, 1942). Mais il a été nécessaire ici d'adapter la méthode à l'étude de stades assez différents de l'embryologie. Nous pouvons distinguer trois cas pour le prélèvement des cellules intéressantes.

Le cas le plus simple est celui d'embryons déjà bien constitués (après le stade 8 jours). C'est donc en particulier celui qui se présente pour l'étude des neuroblastes dont nous venons de parler. Il suffit alors d'ouvrir l'œuf dans du Ringer ; dans ces conditions, l'embryon se sépare assez facilement du vitellus. On le transporte ensuite à l'aide d'une pipette dans de l'alcool acétique (3 parties d'alcool absolu pour une partie d'acide acétique cristallisable) et l'on prolonge cette fixation des temps variables suivant les résultats que l'on veut obtenir, généralement entre 1/2 heure et 3 heures. On porte alors l'embryon fixé dans le carmin ou l'orcéine acétiques à 45 o/o. Là encore on peut, pour obtenir des résultats légèrement différents, employer des solutions plus ou moins concentrées en colorant et des temps de coloration plus ou moins longs. Un séjour de 10 minutes à 1/4 d'heure est nécessaire pour que le gonflement des cellules soit suffisant et l'on est amené à réduire la quantité de colorant pour éviter les empâtements. L'écrasement se fait alors dans les conditions normales.

Mais, pour des bandes germinatives plus jeunes, on ne peut employer la même méthode de prélèvement. La bande germinative est en effet invisible sous la loupe binoculaire et il faut alors fixer l'œuf dans son entier, après avoir retiré son opercule, et ensuite prélever la bandelette germinative ou le blastoderme âgé. Dans ces conditions, la pénétration du fixateur est assez lente, bien qu'il s'agisse d'alcool acétique, et on ne peut doser le temps de fixation comme sur un embryon isolé. Les écrasements faits sur de jeunes

embryons prélevés de cette manière et traités au carmin ou à l'orcéine acétique comme précédemment, donnent donc généralement de moins bons résultats. J'ai alors souvent utilisé une technique indiquée par DARLINGTON et LA COUR (1942). Elle consiste à faire, aussitôt après la fixation, une coloration *in toto* de la pièce au Feulgen, ici on colore l'œuf *in toto* et l'on ne détache l'embryon qu'une fois cette coloration faite. On fait ensuite séjourner l'embryon détaché, quelques minutes dans l'acide acétique à 45 o/o et l'on écrase suivant la technique classique entre lame et lamelle.

Enfin, se présente le cas plus délicat des stades embryonnaires antérieurs à la formation des vitellophages où il est impossible de séparer les noyaux de segmentation du vitellus sous-jacent. Cependant, ces stades présentent, comme nous le verrons par la suite, une grande importance. Il m'a été possible de surmonter cette difficulté en employant une technique qui m'a été suggérée par STAIGER, simple modification de celle qu'il emploie pour étudier les divisions de maturation des Pourpres (STAIGER, 1954). On fait séjourner l'œuf en entier non plus quelques minutes mais quelques jours dans l'orcéine ou dans le carmin acétiques. Le vitellus se gonfle alors démesurément, devient gélatineux et il est possible de l'écraser. Dans le cas des œufs de Phasmes, trop volumineux pour permettre un écrasement en totalité, on peut prélever la calotte correspondant à l'aire embryonnaire et la méthode s'applique alors parfaitement.

Toutes ces méthodes d'écrasement donnent des préparations temporaires ne permettant une observation que pendant quelques heures. Pour les rendre permanentes, il faut décoller la lamelle, déshydrater et procéder à un nouveau montage à l'euparal ou au baume. Il est souvent préférable d'assurer aux préparations temporaires une vie plus longue en scellant la lamelle avec un lut. On peut ainsi obtenir des préparations qui restent pratiquement intactes pendant une quinzaine de jours, ce qui est, la plupart du temps, suffisant pour l'étude. Toutefois, les préparations permanentes sont précieuses pour conserver des témoins.

Les méthodes cytologiques classiques dont nous venons d'examiner la réalisation pratique offrent cependant un double inconvénient. Le nombre de cellules sur lesquelles on peut compter les chromosomes est très restreint. Nous verrons que le nombre de cellules en division dans un blastoderme d'œuf fécondé n'excède guère 40 o/oo, ce qui conduit, avec les aléas de la préparation et le fait que tous les stades de la mitose ne sont pas également favorables, à ne faire porter le comptage que sur 5 à 10 o/oo de la totalité des cellules. Il faudra donc, pour qu'on puisse donner par exemple un pourcentage de cellules haploïdes dans un blastoderme, que celui-ci comporte un grand nombre de cellules si l'on veut obtenir un chiffre significatif. C'est pourquoi j'ai pensé aux méthodes histophotométriques, mises au point assez récemment, grâce auxquelles on peut mesurer la quantité d'acide désoxyribonucléique dans chaque noyau pris individuellement. Cette technique devrait nous permettre de déterminer l'état haploïde ou diploïde des noyaux au repos. De plus, on a souvent discuté la réalité de l'haploïdie dans des cellules présentant le nombre n de chromosomes et, en s'appuyant sur le volume de ces chromosomes, supposé qu'ils étaient en réalité doubles et donc la cellule fonctionnellement diploïde. Les méthodes histophotométriques m'ont paru aptes à

lever ce doute, mais leur application s'est révélée à l'usage assez délicate, aussi avant d'en donner les résultats est-il nécessaire de discuter les conditions de leur emploi.

2. — *Méthode histophotométrique de mesure
de la quantité d'ADN par noyau.*

L'utilisation des méthodes spectrophotométriques pour le dosage de différentes substances à l'intérieur d'une seule cellule ou d'un seul organite cellulaire est une méthode relativement moderne. On a d'abord utilisé l'absorption naturelle de certains composants dans l'ultraviolet (CASPERSSON, 1940), puis, grâce à l'emploi de colorations appropriées, l'absorption du colorant fixé, dans sa bande d'absorption maximum en lumière visible (POLLISTER et RIS, 1947; POLLISTER et MOSES, 1949; LISON, 1950). J'ai utilisé l'appareil réalisé par ce dernier auteur car il présente l'avantage d'être plus maniable et de permettre dans le même temps un plus grand nombre de mesures. Les conditions de son emploi et les précautions à prendre pour obtenir des mesures significatives découlent des études de RIS et MIRSKY (1949), LISON (1950), LISON et PASTEELS (1951) et DE SMUL et LECOMTE (1953).

Pour la mesure de la quantité d'acide thymonucléique dans les noyaux cellulaires qui constitue la première application réalisée de la méthode, on utilise l'absorption dans le vert de préparations colorées par la méthode de Feulgen. Diverses études, en particulier celle de DI STEPHANO (1948) ont montré qu'en prenant un certain nombre de précautions, la méthode pouvait conduire à des mesures relatives satisfaisantes. En effet, les inconvénients majeurs proviennent du fait que l'intensité de la coloration obtenue dépend beaucoup du fixateur utilisé et du temps d'hydrolyse pratiqué avant la coloration et d'autre part, d'une manière moins analysable, de la qualité du réactif de Schiff employé. Il est pratiquement impossible de réaliser deux solutions parfaitement identiques à ce sujet, et même si la chose était possible, le réactif, même conservé à l'obscurité et à basse température, évolue lentement avec le temps. Pourtant on peut facilement éviter ces inconvénients en ne comparant que des pièces fixées en même temps et hydrolysées et colorées ensemble. Quand il s'agit de coupes histologiques la méthode la plus sûre est de coller, côte à côte sur la même lame, les coupes des différents tissus à comparer. Dans beaucoup de cas, il est utile de prendre comme intermédiaire, dans ces comparaisons, un tissu de référence. Le plus commode est le testicule de l'espèce envisagée, quand les comparaisons ne portent que sur des tissus d'une même espèce. On peut alors prendre pour référence soit la quantité d'ADN contenue dans une spermatide, égale à la quantité haploïde du noyau au repos (symbolisée par la lettre *s*), soit celle du spermatocyte de premier ordre, arrivé au repos qui précède la prophase de la première division de maturation, cette quantité est alors égale à 4*s*. Dans le cas présent, les cellules étant relativement grandes, il est plus facile d'utiliser, comme référence, les mesures portant sur les spermatides qui subissent un repos assez prolongé avant de s'engager sur la voie de la spermiogenèse.

Cette méthode a été très utilisée dans les années récentes, et il est impossible de donner même un aperçu de tous les résultats qu'elle a permis d'obtenir. On pourra consulter, à ce sujet, la mise au point de SWIFT (1953). Mais nous allons dégager les principaux faits qui justifient ici l'emploi de la méthode. Il est nécessaire d'envisager séparément le cas de cellules au repos mitotique et celui des cellules en division.

En général, la quantité d'ADN contenue dans les noyaux au repos est s , $2s$, $4s$, $8s$, etc.; la méthode de mesure nous permet donc de caractériser dans un tissu mixte des cellules haploïdes, diploïdes, tétraploïdes, etc. Pour certains noyaux qui se trouvent à l'état de repos mitotique prolongé ou même ne se diviseront plus, il se produit souvent des variations dont la nature est assez délicate à interpréter (LISON et VALERI, 1955). Mais de toute façon, ces variations sont généralement faibles (LECOMTE et DE SMUL, 1952; BERGERARD et TUCHMANN-DUPLESSIS, 1953), et d'autre part, nous n'avons pas à les envisager ici puisque nous aurons toujours affaire dans nos mesures à des cellules qui se divisent activement.

Dans ce cas, on constate qu'il y a toujours synthèse d'ADN pendant l'interphase, la quantité mesurée passant par exemple pour une cellule diploïde, de $2s$ à la télophase à $4s$ pour la prophase de la division suivante. La place qu'occupe cette synthèse dans l'interphase reste en discussion (CASPERSON, 1950; LISON et PASTEELS, 1951; HUGHES, 1952; WALKER et YATES, 1952). En réalité, il semble bien que cette place soit assez variable suivant les espèces envisagées et dans une même espèce en fonction de la fréquence des divisions. LISON et PASTEELS sur des cellules embryonnaires d'oursin prises à un stade très jeune ont constaté qu'elle se place aussitôt après la télophase et s'accomplit très rapidement. Cependant, quand la fréquence de division devient nulle, ce qui est pratiquement le cas des cellules adultes au repos, les mesures placent toujours les cellules diploïdes au niveau $2s$, si l'on écarte les quelques exceptions que nous avons signalées plus haut.

Dans le cas particulier des embryons de *Clitumnus*, la synthèse de l'ADN se produit en moyenne vers le milieu de l'interphase, au moins au début du développement. En effet, on obtient toujours pour les mesures faites sur le blastoderme d'un œuf fécondé, âgé de 3 ou 4 jours, une courbe bimodale dont les modes sont à peu près équivalents et situés aux valeurs $2s$ et $4s$ (fig. 25). Les mesures ne portent que sur des noyaux au repos, celles que l'on effectue sur les stades de division sont d'ailleurs beaucoup plus délicates et sujettes à erreur. Cependant, j'ai pu montrer que ceci n'est probablement qu'une moyenne. Il en est bien ainsi, un peu plus tard, quand intervient la différenciation des tissus. Pour le démontrer, j'ai utilisé une comparaison des neuroblastes dont la division est très rapide et de leurs cellules filles qui se divisent beaucoup plus lentement. J'ai alors constaté que, si pour les neuroblastes la synthèse se fait aussitôt après la télophase, elle se situe relativement tard dans l'interphase pour les cellules nerveuses embryonnaires qui en dérivent. Il semble bien qu'il existe en réalité au cours de cette interphase deux périodes où il n'y a pas de synthèse d'ADN, séparées par une période de synthèse. Alors que la deuxième période de repos au niveau $4s$ aurait une durée assez constante (quelques heures dans le cas présent), la vraie période de repos au niveau $2s$, qui suit la télophase, pourrait se trouver pratiquement

supprimée dans le cas de mitoses très rapides comme celles des neuroblastes et par contre presque indéfiniment allongée dans le cas des cellules adultes (BERGERARD, 1955).

Il résulte de ce que nous venons de dire que dans l'étude projetée nous n'aurons jamais affaire qu'à des histogrammes bimodaux ou encore plus compliqués (s'il y a présence de plusieurs types nucléaires : haploïde et diploïde, par exemple). Il ne saurait donc être question de les comparer en faisant des moyennes comme on peut le faire quand il s'agit de cellules

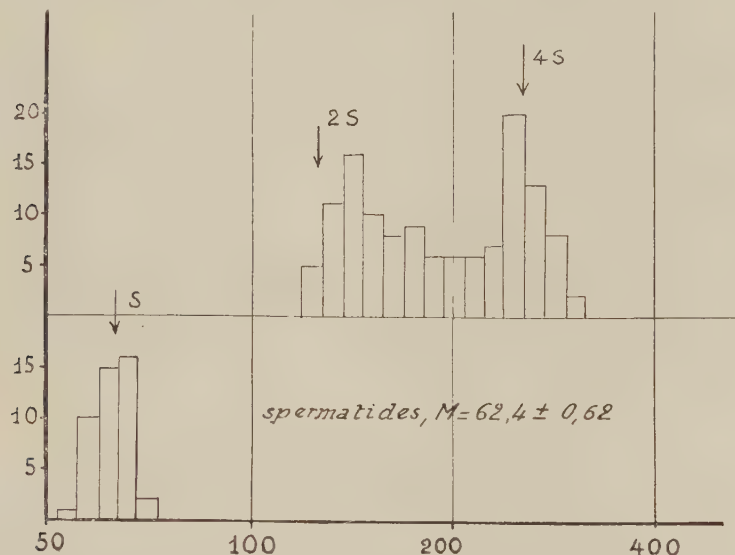


Fig. 25. — Teneur en ADN des noyaux dans un blastoderme prélevé sur un œuf fécondé. En abscisses, quantités d'ADN en unités arbitraires (échelle logarithmique); en ordonnées, fréquence des noyaux de chaque catégorie. En bas, répartition de la teneur en ADN pour les spermatides servant de témoin.

adultes. Cependant, la comparaison directe des histogrammes nous permettra de suivre facilement l'évolution de ces types nucléaires.

Il faut noter, d'ailleurs, que cette méthode, comme celle des numérations chromosomiques par écrasements offre certaines difficultés d'emploi. En effet, si les mesures sont très faciles à faire quand il s'agit de blastoderms à une seule couche cellulaire détachés de l'œuf après une coloration *in toto* et montés à plat entre lame et lamelle, elles deviennent plus délicates dans le cas d'embryons plus jeunes ou plus âgés. Au début de la segmentation, on ne peut détacher les cellules du vitellus et il faut effectuer les mesures sur des montages comportant toute la calotte vitelline correspondant à l'aire embryonnaire; mais l'épaisseur du vitellus sous-jacent donne alors des phénomènes de diffraction qui viennent troubler la précision des mesures photométriques. On peut aussi, il est vrai, opérer sur des coupes d'œufs, mais alors, en excluant les noyaux entamés par le rasoir, on ne dispose que de

quelques noyaux par coupe et la méthode devient extrêmement longue. D'autre part, quand l'embryon acquiert plusieurs couches de cellules, il n'est plus possible d'utiliser des montages *in toto* pour la photométrie, puisqu'on ne peut faire la mesure que sur des noyaux ne présentant pas de superposition avec d'autres. Ici encore, l'emploi des coupes est assez délicat, les noyaux y étant très serrés les uns contre les autres comme dans tous les tissus embryonnaires, ce qui rend la double condition de ne mesurer que des noyaux entiers et ne présentant pas de superposition, difficile à réaliser. Cependant, on peut tourner la difficulté en faisant des frottis bien que cette technique ait le désavantage de ne pas nous permettre de distinguer entre les différents tissus embryonnaires.

Remarquons toutefois que, d'après ce que nous venons de dire, le stade le plus favorable pour les mesures photométriques, celui du blastoderme assez avancé pour se détacher facilement du vitellus après fixation, est aussi celui où la technique d'écrasement pour les numérations chromosomiques est la plus délicate à appliquer, c'est là une raison supplémentaire de l'emploi en concurrence des deux méthodes.

Nous allons maintenant examiner les résultats obtenus et nous prendrons d'abord l'étude de la régulation chromosomique dans la souche N₄ où il m'a été possible de faire l'étude complète par les méthodes classiques d'écrasement et qui pourra donc nous servir à confirmer la valeur de la méthode histophotométrique pour une telle étude.

III. — Etude de la régulation chromosomique dans la souche N₄

Nous avons vu dans l'étude embryologique que cette souche doit normalement présenter la régulation la plus tardive et donc probablement la plus facile à mettre en évidence. C'est donc par elle que nous commencerons.

A. — ÉTABLISSEMENT DE L'HAPLOÏDIE INITIALE

Les montages *in toto* de la calotte correspondant à l'aire embryonnaire faits au bout de 3 ou 4 jours d'incubation montrent quelques centaines de noyaux répartis à la surface du vitellus. Ces noyaux sont nettement plus petits que ceux trouvés dans les œufs fécondés à un stade correspondant, ce qui fait penser à une haploïdie probable (fig. 26 et 27). Malheureusement, les plaques métaphasiques ont presque toujours à ce stade leur plan orienté perpendiculairement à la surface du vitellus et ne permettent guère une numération des chromosomes. Pourtant, dans certains cas favorables, comme celui de la figure 26, cette numération est parfaitement possible. De toute façon, les écrasements de la calotte vitelline donnent de bons résultats et présentent toujours quelques métaphases parfaitement lisibles et qui m'ont constamment donné un nombre haploïde de chromosomes avec 17 acrocentriques et 2 métacentriques dont l'un, plus grand, est manifestement l'hétéro-

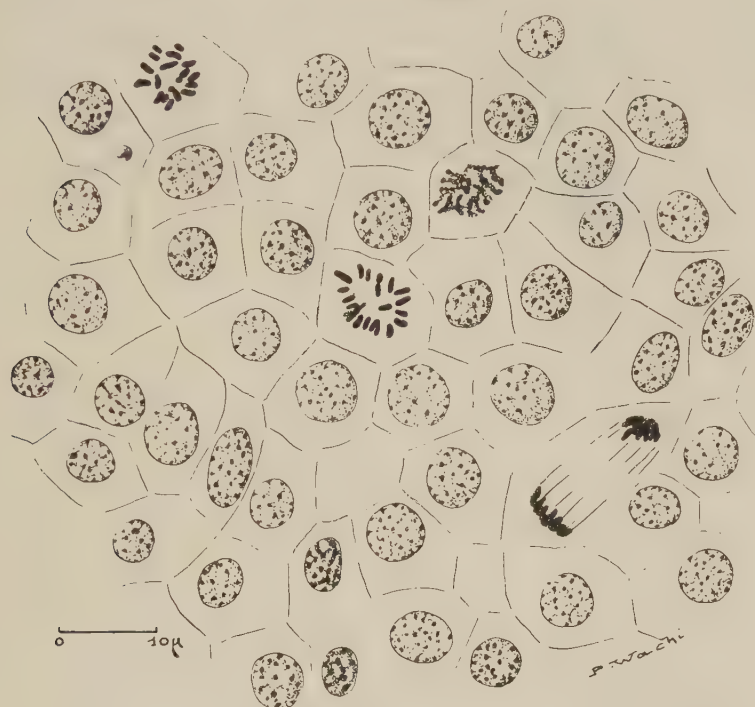


Fig. 26. — Blastoderme *in toto* d'un œuf vierge de la souche N_4 (incubation 5 jours); noter le nombre haploïde de chromosomes dans la métaphase au centre et la petite taille des noyaux au repos par rapport à ceux de la figure 27 (Coloration Feulgen).



Fig. 27. — Blastoderme *in toto* d'un œuf fécondé après 3 jours d'incubation vu de face (Coloration Feulgen).



Fig. 28. — Métaphase haploïde (blastoderme âgé d'œuf vierge de la souche N_4) (Écrasement carmin acétique).

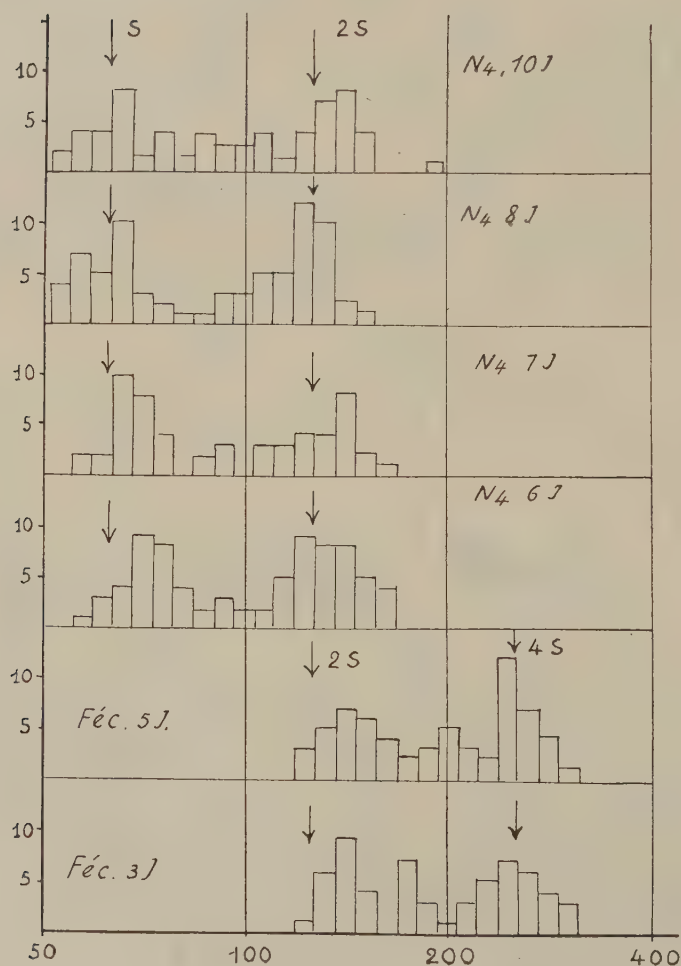


Fig. 29. — Comparaison des teneurs en ADN des noyaux dans les blastoderms des œufs fécondés et des œufs vierges de la souche N_4 . La quantité s est la moyenne obtenue pour les spermatides témoins. Jusqu'à 10 jours d'incubation, les blastoderms des œufs vierges sont manifestement haploïdes.

chromosome (fig. 28). Il n'est guère possible à ce stade de faire des index mitotiques, en effet, on ne dispose que de quelques mitoses par œuf et les valeurs trouvées auraient peu de signification. Cependant, le nombre de cellules assez nettement inférieur à celui que présentent les œufs fécondés pour

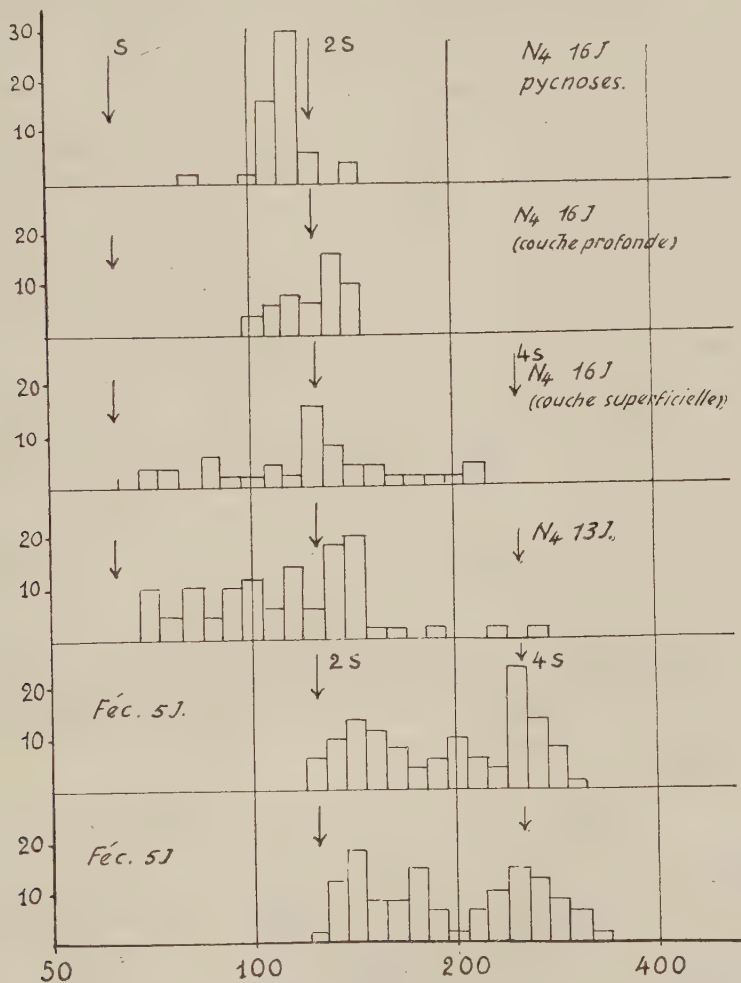


Fig. 30. — Teneur en ADN des noyaux dans les blastodermes d'œufs vierges de la souche N₄. Après 13 jours d'incubation, il apparaît quelques cellules qui atteignent le niveau 4s (cellules diploïdes après leur synthèse prémitotique). On a séparé les mesures faites après 16 jours d'incubation en trois groupes : dans la couche superficielle, il existe des cellules diploïdes; par contre, dans le tissu profond les pycnoses comme les noyaux apparemment normaux tendent à se grouper autour de la valeur 2s (valeur de la prophase ou de la métaphase haploïde). En bas, mesures faites dans deux blastodermes d'œufs fécondés. Les mesures à 16 jours d'incubation ont été faites sur coupe pour permettre la distinction de la couche superficielle.

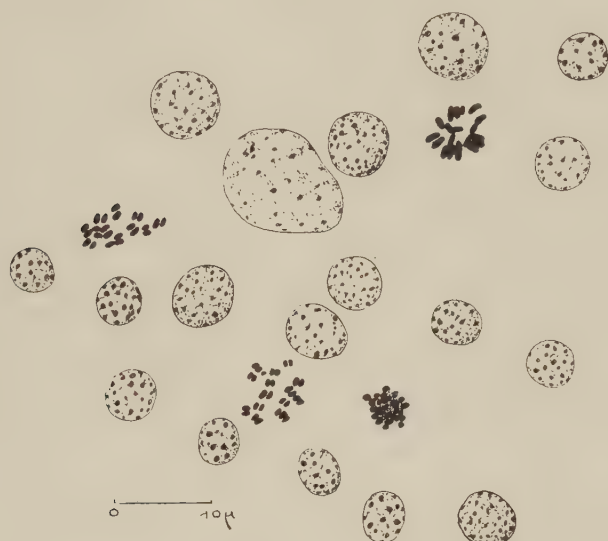
une même durée d'incubation fait penser que les mitoses haploïdes se déroulent à un rythme plus lent que celui des cellules diploïdes. Le nombre très faible de métaphases m'a conduit à effectuer des mesures d'ADN nucléaire qui portant sur les cellules au repos pourraient peut-être nous permettre de découvrir quelques cellules diploïdes dès ce stade, mieux que ne peuvent le faire les numérations de chromosomes. La figure 29 montre un histogramme obtenu à un stade un peu plus avancé (6 jours d'incubation) ainsi que ceux fournis par des blastoderms d'œufs fécondés. Il est manifeste que le blastoderme de l'œuf fécondé est uniquement constitué de cellules diploïdes oscillant au cours de leur cycle mitotique entre les valeurs 2s et 4s. Mais pour l'œuf vierge, l'histogramme ne révèle aucune cellule qui ne puisse être interprétée comme haploïde, les cellules en mitose oscillant entre les valeurs s et 2s. Cette constatation nous permet d'écartier de plus une objection. En effet, il n'y a plus aucune raison de supposer que chaque chromosome du stock haploïde puisse en réalité être double. A l'examen ces chromosomes ne paraissent d'ailleurs pas plus gros que ceux des cellules diploïdes des œufs fécondés au même stade. Il est donc normal d'admettre que les blastoderms des œufs parthénogénétiques sont uniquement composés de cellules haploïdes. L'examen des stades postérieurs va nous permettre de mettre en évidence le mécanisme de diploïdisation de ces cellules. Notons qu'il doit être assez tardif puisque des mesures effectuées jusqu'à 10 jours d'incubation montrent toujours le même type d'histogramme, s-2s, caractéristique des cellules haploïdes (fig. 29). A partir de cet âge, nous avons vu que le blastoderme s'épaissit beaucoup ; il n'est donc plus possible de faire des mesures sur des montages *in toto*, mais la figure 30 montre deux histogrammes obtenus sur des coupes pratiquées après 13 et 16 jours d'incubation ; on y découvre qu'un petit nombre de cellules possède alors une quantité d'ADN intermédiaire entre 2s et 4s. Il est naturel d'admettre qu'à partir de ce moment nous avons apparition de quelques cellules diploïdes. Mais ces deux histogrammes montrent en plus un fait assez particulier. En effet, un grand nombre de cellules y possèdent des quantités d'ADN voisines de 2s. L'examen d'écrasements pratiqués à ce stade va nous permettre d'interpréter ce phénomène.

B. — APPARITION DE MITOSES BLOQUÉES

Vers le 4^e jour d'incubation des œufs parthénogénétiques, on voit apparaître dans les blastoderms montés *in toto* des figures de mitoses particulièrement remarquables. Il s'agit d'une phase qui serait en quelque sorte intermédiaire entre la prophase et la métaphase (fig. 31 et planche IV, photo 6). Le stade prophase y est dépassé puisque la membrane nucléaire a disparu mais les chromosomes au lieu de se trouver en plaque métaphasique, sont au contraire dispersés dans tout le cytoplasme cellulaire. Ils sont d'ailleurs beaucoup plus courts que les chromosomes métaphasiques normaux, de plus des écrasements pratiqués à ce moment du développement permettent d'établir qu'on y trouve deux figures en croix (fig. 32 et planche IV, photo 7), qui ne peuvent s'interpréter que comme des diplochromosomes métacentriques dont les deux éléments sont maintenus ensemble par le centromère resté

indivis. A côté de ces deux éléments en croix, on trouve 17 éléments en hal-
tères, qui sont manifestement des diplochromosomes acrocentriques. On
retrouve donc bien la constitution haploïde de l'espèce : 17 acrocentriques et
2 métacentriques dont le plus grand est l'hétérochromosome.

Les différents caractères que nous venons de mettre en évidence : dispari-
tion de la membrane nucléaire, dispersion des chromosomes dans tout le cyto-



P. WACHS

Fig. 31. — Blastoderme *in toto* prélevé sur un œuf vierge de la souche N_4 après
une incubation de 9 jours. On y voit côte à côte une métaphase normale
haploïde et deux métaphases bloquées. Noter la taille très inégale des noyaux au
repos (Coloration Feulgen).



Fig. 32. — Métaphases bloquées. Noter le nombre haploïde de diplochromosomes et
la forme en croix caractéristique des deux métacentriques (Écrasement carmin,
embryons d'œufs vierges de la souche N_4).

plasme de la cellule, enfin, formation de diplochromosomes, rappellent ceux qui caractérisent certaines mitoses obtenues, particulièrement chez les végétaux, à la suite d'une intoxication à la colchicine (LEVAN, 1938; EIGSTI et DUSTIN, 1954) qui les bloque à la métaphase. Nous reviendrons ultérieurement sur le rôle joué par ces mitoses de type colchicinique, que nous désignerons simplement par le terme de métaphases bloquées. Nous allons maintenant étudier l'importance relative du phénomène et délimiter la phase du développement où on le trouve. Pour cela il est nécessaire de se reporter au tableau XIII. On y trouve d'abord l'index mitotique des œufs fécondés. Ces index ont été établis sur des blastodermes ayant subi une incubation de 3, 4 ou 5 jours, puis pour les stades postérieurs sur des écrasements d'embryons aux stades correspondant à une incubation de 6, 9 et 12 jours. Cette période recouvre en effet toute la partie intéressante pour une comparaison avec les embryons parthénogénétiques. On a distingué deux index différents, l'un (index mitotique total) est le pourcentage de toutes les cellules trouvées en mitose bien caractérisée (fin de prophase, métaphase, anaphase et début de télophase), le 2^e n'intéresse que les deux dernières phases et indique donc le pourcentage de cellules ayant réellement accompli une division. Les chiffres obtenus appellent les deux remarques suivantes : l'index mitotique est assez constant au cours de toute cette période de développement, avec cependant une diminution assez notable pour le dernier stade considéré. De plus, on constate que l'index anaphasique est environ moitié de l'index total, ce qui revient à dire que la durée de la métaphase y est à peu près égale à celle de l'anaphase.

Voyons maintenant ce qu'il en est pour les embryons parthénogénétiques. On peut cette fois distinguer des métaphases normales, des métaphases bloquées et des anaphases. Ce qui permet d'établir ici trois sortes d'index : un index mitotique total, un index mitotique total normal comprenant seulement les métaphases normales et les anaphases, enfin un index anaphasique. La numération a été établie suivant les deux méthodes déjà suivies pour les embryons d'origine fécondée. Jusqu'à 10 jours d'incubation, on peut prendre comme repère de temps, le temps d'incubation et opérer sur des blastodermes montés *in toto*, au-delà il faut écraser les embryons et, pour avoir des résultats homogènes, prendre, comme repère de temps, l'état d'évolution suivant l'échelle définie plus haut. On remarquera que l'index total est toujours supérieur à celui des embryons fécondés ; de plus l'index anaphasique est toujours très inférieur à la moitié de cet index total. Par contre, si nous excluons les figures auxquelles nous avons donné le nom de métaphases bloquées (index total normal) nous retrouvons des chiffres comparables à ceux des embryons fécondés, bien que généralement un peu inférieurs. Le fait qu'il existe relativement peu de variations de l'index mitotique normal, alors que l'index mitotique total varie dans des proportions considérables d'un embryon à l'autre, justifie le terme employé de métaphase bloquée. D'après les chiffres obtenus on ne peut, en effet, concevoir ce stade que comme une phase relativement très longue par rapport aux métaphases normales et aux anaphases. De plus, ils montrent que les métaphases bloquées apparues vers le 4^e ou 5^e jour d'incubation tendent à disparaître dès que l'on atteint un stade d'évolution correspondant à 9 jours d'incubation pour un œuf fécondé.

TABLEAU XIII

Index mitotique des embryons fécondés.

I. — Blastodermes in toto			
Incubation	Nombre total de cellules	Index total o/o	Index anaphasique o/o
3 jours	3.741	33,2	17,4
4 jours	3.451	46,4	20,5
5 jours	3.624	33,1	15,2
II. — Écrasements d'embryons			
6 jours	2.349	35,8	17,4
9 jours	3.661	41,0	19,1
12 jours	3.500	24,0	10,3

Index mitotique des œufs parthénogénétiques.

I. — Blastodermes in toto					
Incubation	Nombre total de cellules	Index total o/o	Index total normal o/o	Index anaphasique o/o	Pourcentage de mitoses bloquées o/o
5 jours	3.043	50,6	29,9	15,5	40,9
6 jours	3.721	76,0	40,3	18,5	47,0
7 jours	4.861	68,1	43,4	16,7	54
10 jours	1.076	47,4	30,7	14,9	35,3
II. — Écrasements d'embryons					
État d'évolution	Nombre total de cellules	Index total o/o	Index total normal o/o	Index anaphasique o/o	Pourcentage de mitoses bloquées o/o
6 jours	2.556	42,2	27,4	14,5	35,2
8 jours	2.614	45,1	28,3	19,1	37,0
9 jours	6.656	47,0	39,0	17,3	17,2

Mais l'établissement d'index mitotiques demande de compter des milliers de cellules au repos et il ne peut guère être question d'établir des moyennes pour les différents stades, il est plus facile alors de ne compter que les cellules en mitose et d'établir simplement le pourcentage de mitoses bloquées parmi elles. Ce sont ces chiffres que donne le tableau XIV.

TABLEAU XIV

*Pourcentage de mitoses bloquées
et de cellules haploïdes en division
au cours du développement des œufs parthénogénétiques.*

(Les chiffres représentent des moyennes portant sur une dizaine d'embryons et plus de 1 000 mitoses pour chacune).

État d'évolution	Pourcentage de métaphases bloquées dans le nombre total de mitoses	Pourcentage de cellules <i>n</i> dans le nombre total de cellules en division normale
5 jours	33,4 o/o	86,0 o/o
6 jours	36,4 »	67,1 »
6-7 jours	39,6 »	63,0 »
7 jours	36,7 »	51,9 »
8 jours	22,4 »	44,9 »
9 jours	11,5 »	24,3 »
10 jours	13,9 »	16,6 »
11 jours	11,1 »	9,3 »

Tous ces chiffres ont été établis à partir d'écrasements d'embryons prélevés sur des œufs vierges incubés depuis 13 jusqu'à 25 jours, groupés suivant leur état d'évolution et non pas suivant le temps d'incubation ; en effet, ce dernier mode de groupement ne faisait apparaître aucune corrélation. Par contre, si nous considérons l'état d'évolution, on voit nettement sur le tableau qu'après une période où le pourcentage des métaphases bloquées est de 35 o/o environ, celui-ci décroît assez brusquement vers le stade 8 jours pour se fixer ensuite à un niveau beaucoup plus bas. Notons que pour les stades 12 ou 13 jours, les mitoses bloquées deviennent l'exception. Nous pouvons évidemment rapprocher de ces chiffres ceux précédemment donnés pour les index mitotiques des blastoderms jeunes et calculer d'après ces derniers le pourcentage de mitoses bloquées ; les résultats sont évidemment moins précis parce que portant sur des nombres de mitoses plus restreints, mais on y voit bien aussi la diminution pour le stade d'évolution 8 jours. On constate, de plus, que le maximum de mitoses bloquées se rencontre vers 6 à 7 jours d'incubation donc dans des blastoderms qui n'ont pas encore commencé à différencier une bandelette germinative.

C. — LE PHÉNOMÈNE DE DIPLOÏDISATION

Nous n'avons envisagé jusqu'à maintenant dans les blastodermes jeunes que la coexistence de mitoses normales et de mitoses bloquées. Au début du développement, il n'existe que des mitoses normales haploïdes, puis assez brusquement, vers le 4^e jour d'incubation, apparaissent les mitoses bloquées qui, après avoir été très nombreuses, disparaissent progressivement. Mais vers le 13 ou 14^e jour d'incubation apparaissent des mitoses normales diploïdes qui vont progressivement remplacer les mitoses haploïdes. C'est de ce phénomène que nous allons maintenant nous occuper. On peut l'étudier facilement sur les écrasements d'embryons, en effet, l'apparition des premières mitoses diploïdes est contemporaine du début de la formation de la bandelette germinative. Les plaques métaphasiques ainsi que les plaques anaphasiques permettent toutes une numération des chromosomes au moins approximative (à quelques unités près). On peut donc suivre facilement en prenant des embryons de plus en plus avancés le remplacement progressif des cellules haploïdes par des cellules diploïdes. Dans ces résultats, on ne tiendra naturellement pas compte des mitoses bloquées. Le tableau XIV montre cette évolution, en donnant pour chaque stade le pourcentage de mitoses normales haploïdes par rapport au nombre total de mitoses normales. Au début de la formation de la bandelette germinative (état d'évolution 5 jours) le pourcentage de cellules haploïdes est encore très élevé (près de 90 o/o) puis ce chiffre s'abaisse progressivement jusqu'à ne plus représenter que moins de 10 o/o au stade d'évolution 11 jours. Dans les stades postérieurs, il est exceptionnel de trouver une cellule haploïde. Malgré tout, il faut bien se représenter que, comme pour le pourcentage de mitoses bloquées, il existe des variations individuelles très notables au moins jusqu'au stade d'évolution 8 jours, où les cellules haploïdes peuvent encore prédominer largement. Par contre, ce stade ne paraît jamais pouvoir être dépassé avant que le pourcentage de cellules haploïdes ne se soit abaissé au-dessous de 30 o/o environ. En résumé, la bandelette germinative ne commence jamais à se former sans la présence d'au moins quelques cellules diploïdes et l'apparition des neuroblastes ne semble pas pouvoir se faire dans un embryon qui possède plus de 30 o/o de cellules haploïdes. Je n'ai d'ailleurs jamais pu voir dans cette souche N₄ de neuroblaste haploïde. Ces faits sont à rapprocher de ce que nous connaissons sur l'intervention du noyau au cours de l'embryologie. On sait en effet (BRIGGS et KING, 1955) que chez l'Oursin par exemple, on peut obtenir des divisions cytoplasmiques en l'absence de tout noyau, mais cette segmentation s'arrête toujours avant le début de la gastrulation. De même chez les Amphibiens, on peut obtenir des hybrides d'espèce dont la segmentation se poursuit au-delà de la segmentation normale, mais il ne se produit jamais de gastrulation. Chez *Clitumnus*, on a affaire à un phénomène analogue, l'œuf haploïde est capable de segmentation mais la bandelette germinative ne se forme (stade contemporain, comme nous l'avons vu, de l'apparition des premières cellules mésodermiques) que s'il existe dans le blastoderme au moins quelques cellules diploïdes. De même la formation du système nerveux ne semble pouvoir être le fait que de cellules diploïdes.

D. — MÉCANISME CYTOLOGIQUE DE LA RÉGULATION CHROMOSOMIQUE

L'apparition successive dans le temps des mitoses bloquées, puis des mitoses diploïdes fait penser à un rôle possible des premières dans la formation des secondes. Cependant, on connaît assez peu de cas où un tel mécanisme a pu être mis en évidence chez les animaux (FANKHAUSER et HUMPHREY, 1952). De plus, la mitose colchicinique dont nous avons déjà souligné l'analogie avec le phénomène observé ici est connue pour ne conduire que très rarement à une polyploïdisation chez les animaux (EIGSTI et DUSTIN, 1954). Il est donc nécessaire, avant d'affirmer la réalité d'un tel mécanisme, d'envisager si d'autres phénomènes ne pourraient jouer un rôle.

1. — *Rôle possible des vitellophages dans la diploïdisation.*

Nous avons vu qu'avant la formation de la bandelette germinative (au 4^e jour d'incubation chez les œufs fécondés) certaines cellules se détachent du blastoderme et s'enfoncent à l'intérieur du vitellus, ce sont les vitellophages. Or, les noyaux de ces cellules dès le début de leur migration sont beaucoup plus volumineux que ceux du blastoderme. Des mesures photométriques m'ont d'ailleurs montré qu'il s'agit de cellules polyploïdes. Cette polyploïdie s'y réalise par un phénomène d'endomitose assez discret attesté cependant par l'existence de quelques endoanaphases bien caractérisées. On pourrait concevoir que dans les œufs vierges ce mécanisme jouant à partir de cellules haploïdes et conduisant donc, dans un premier stade, à une diploïdisation soit à l'origine des cellules diploïdes formatrices de l'embryon, les mitoses bloquées pouvant ne servir alors qu'à éliminer par pycnose les cellules haploïdes inutiles. Il existe cependant de nombreuses raisons qui rendent ce mécanisme fort peu probable.

D'une part, on considère généralement que les cellules engagées dans des cycles d'endomitose ne donnent que très exceptionnellement par la suite des mitoses normales. C'est ce qui se passe en particulier, pour la presque totalité des cellules polyploïdes des tissus larvaires d'Insectes holométaboles qui disparaissent pour céder la place aux cellules imaginaires issues de cellules souches restées diploïdes et groupées pendant la vie larvaire en petits amas disséminés dans les organes. Il existe pourtant des exceptions à cette règle et même quelques cas de réductions somatiques se produisant sur des noyaux ayant subi une polyploïdisation par endomitoses.

D'autre part, dans la souche N_4 que nous avons étudiée jusqu'ici, si le blocage des mitoses aboutit bien à des pycnoses qui éliminent presque toutes les cellules qui se sont anormalement multipliées à l'intérieur du vitellus, je n'ai jamais constaté la présence de pycnoses dans la couche cellulaire superficielle où cependant les métaphases bloquées sont très nombreuses à une certaine période. Il n'existe donc aucune trace de disparition des cellules haploïdes par dégénérescence dans cette zone. De plus, nous verrons dans un instant que d'autres souches réalisent presque toute leur régulation chromosomique avant l'apparition des vitellophages. Or, dans ce cas, comme pour la souche N_4 , des mitoses bloquées apparaissent dans les noyaux de segmentation haploïdes et

précèdent largement l'apparition de cellules diploïdes dans ces blastodermes. Il est donc certain que les vitellophages, en admettant qu'ils puissent jouer un rôle dans la diploïdisation, n'en sont pas le facteur principal.

2. — *Élimination des cellules haploïdes à l'intérieur du vitellus.*

Nous avons vu que, dans la souche N_4 , il se produit normalement au début du développement une prolifération de cellules qui s'enfoncent progressivement dans le vitellus. Par la suite, ces cellules sont appelées à disparaître

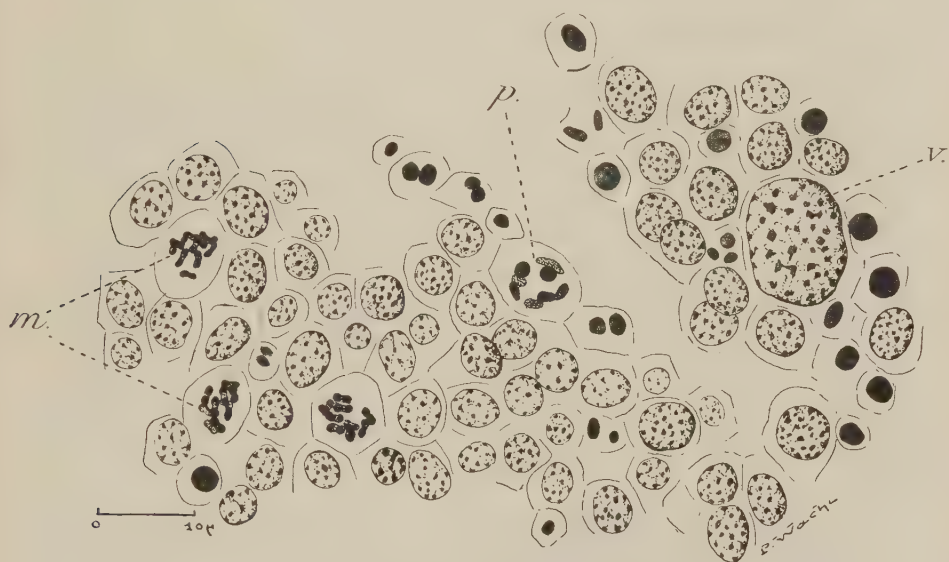


Fig. 33. — Coupe dans le tissu abortif interne au moment où débute la dégénérescence.

m., métaphase bloquée; *p.*, début de pycnose, les chromosomes s'agglomèrent entre eux; *v.*, vitellophage.

complètement par pycnose, l'embryon ne se constituant qu'à partir de la couche externe de cellules.

En réalité, il s'agit d'un tissu assez complexe (fig. 33) qui contient un petit nombre de vitellophages, gros noyaux certainement polyploïdes. Mais la grande majorité des noyaux sont petits et la mesure histophotométrique de leur teneur en ADN donne un histogramme bimodal $s - 2s$ indiquant des cellules haploïdes en division (fig. 30). Bientôt, au moment où commence à s'organiser une bandelette germinative en surface, les mitoses bloquées du type que nous avons décrit se multiplient dans le tissu interne, mais elles ne semblent jamais donner lieu ici à l'apparition de cellules diploïdes. En effet, les diplochromosomes perdent progressivement leur forme et s'agglomèrent

les uns aux autres pour aboutir finalement à une ou deux sphères chromatiques homogènes. On a donc un phénomène de pycnose classique. Il s'agit bien de la dégénérescence de cellules haploïdes, en effet, les mesures histophotométriques montrent que les plus grosses sphères chromatiques n'ont jamais une teneur en ADN supérieure à 2s (fig. 30) quantité égale à celle de la métaphase bloquée haploïde. Des coupes à un stade plus avancé montrent que toutes les cellules ont subi le phénomène de pycnose et rappellent les coupes que l'on obtient normalement dans les tissus animaux après traitement à la colchicine (EIGSTI et DUSTIN, 1954).

Ce n'est donc que dans la partie superficielle que va se produire réellement le phénomène de diploïdisation.

3. — *Destinée des mitoses bloquées de la couche superficielle.*

Il faut noter que si le tissu interne présente toujours, dès le début du développement de la bandelette germinative de nombreuses pycnoses, la couche superficielle en est toujours exempte. Nous avons vu, de plus, que progressivement, y apparaissent des cellules diploïdes, l'état du développement étant en quelque sorte fonction de leur pourcentage dans l'embryon. Il est donc normal de penser que les diplochromosomes après un temps de blocage assez long, se séparent et qu'il y a reconstitution d'une seule membrane nucléaire englobant un nombre double de chromosomes, suivant un schéma très fréquemment suivi par les cellules végétales après traitement à la colchicine. Cependant, ici, le mécanisme de séparation des diplochromosomes doit être très rapide ou même se passer après la déspréalisation ; en effet, on ne trouve que rarement le stade où les deux constituants du diplochromosome sont allongés l'un à côté de l'autre, mais parfaitement séparés (stade en paires de skis de la mitose colchicinique chez les végétaux, qui conduit à la polyploïdisation de la cellule).

Je voudrais, de plus, attirer l'attention sur un phénomène assez fréquent et qui pourrait bien être le mécanisme principal de la diploïdisation. On trouve en effet souvent, dans les écrasements de jeunes embryons, des cellules haploïdes qui présentent une anaphase très contractée, les deux pôles du fuseau y étant manifestement très rapprochés l'un de l'autre et les deux plaques anaphasiques séparées par une distance très faible. Le lien de ces anaphases avec les métaphases bloquées est manifeste ; en effet, comme dans ces dernières les chromosomes y sont beaucoup plus courts que dans les métaphases ou anaphases normales. Il est difficile de dire quel est l'avenir de telles divisions, mais on peut admettre que lors de la télophase il se reconstitue une seule membrane nucléaire englobant l'ensemble des deux plaques anaphasiques très rapprochées. Il s'agirait donc d'une mitose non plus de type strictement colchicinique, comportant l'inhibition totale du fuseau, mais d'une inhibition partielle marquée par un retard considérable de sa formation et par un raccourcissement très marqué de son axe.

Par rapport à ce qui se passe dans le tissu interne, on a donc affaire ici à un mécanisme de même type, marqué dans les deux cas par la présence de métaphases bloquées strictement identiques. Mais le blocage est définitif pour les cellules profondes et aboutit à la pycnose, tandis que pour les cellules

superficielles il y aurait seulement blocage partiel conduisant, par l'intermédiaire d'une anaphase anormale ou d'une séparation sur place des diplochromosomes, à des noyaux diploïdes.

Sitôt l'apparition de ces cellules diploïdes, la gastrulation devient possible et le mécanisme se poursuit assez rapidement jusqu'à épuisement total des cellules haploïdes (stade 12 jours environ). Il existe en effet pendant cette période du développement une corrélation très nette entre le nombre de cel-

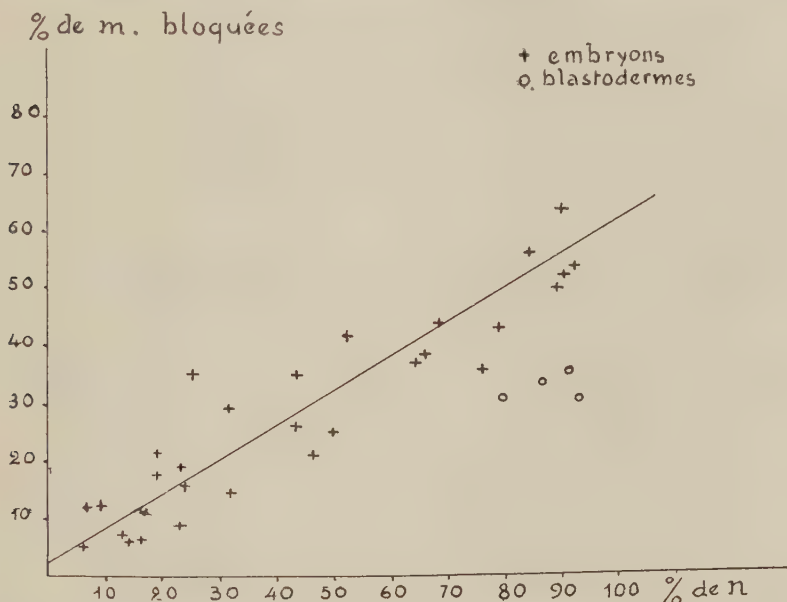


Fig. 34. — Corrélation entre le taux de mitoses bloquées et le taux de cellules haploïdes au cours du développement de l'œuf vierge de la souche N_4 . Chaque croix représente les chiffres obtenus pour un embryon sans tenir compte de son état d'évolution. Les petits cercles indiquent les chiffres obtenus dans le cas de blastodermes.

lules haploïdes qui subsistent et le nombre de métaphases bloquées (fig. 34). Notons d'autre part, qu'à 27°, je n'ai jamais constaté de blocage portant sur des cellules diploïdes. C'est donc, à cette température, un mécanisme de blocage sélectif des mitoses haploïdes qui assure à la fois la production de cellules diploïdes qui vont en surface constituer l'embryon et l'élimination d'un grand nombre de cellules haploïdes par pycnose dans le tissu transitoire profond.

IV. — Etude de la régulation chromosomique dans les autres souches.

Nous avons vu dans l'étude embryologique que les autres souches se caractérisent par un allongement moins important de la durée du développement embryonnaire et l'absence de tissus profonds abortifs. Nous allons voir que

ceci n'affecte pas de manière sensible le mécanisme de la diploïdisation mais, celle-ci se produisant plus tôt, il est difficile de la suivre quantitativement depuis son début. Toutes les souches isolées mises à part N_4 , se comportant à peu près de la même manière, l'étude portera surtout sur la souche O_5 qui,

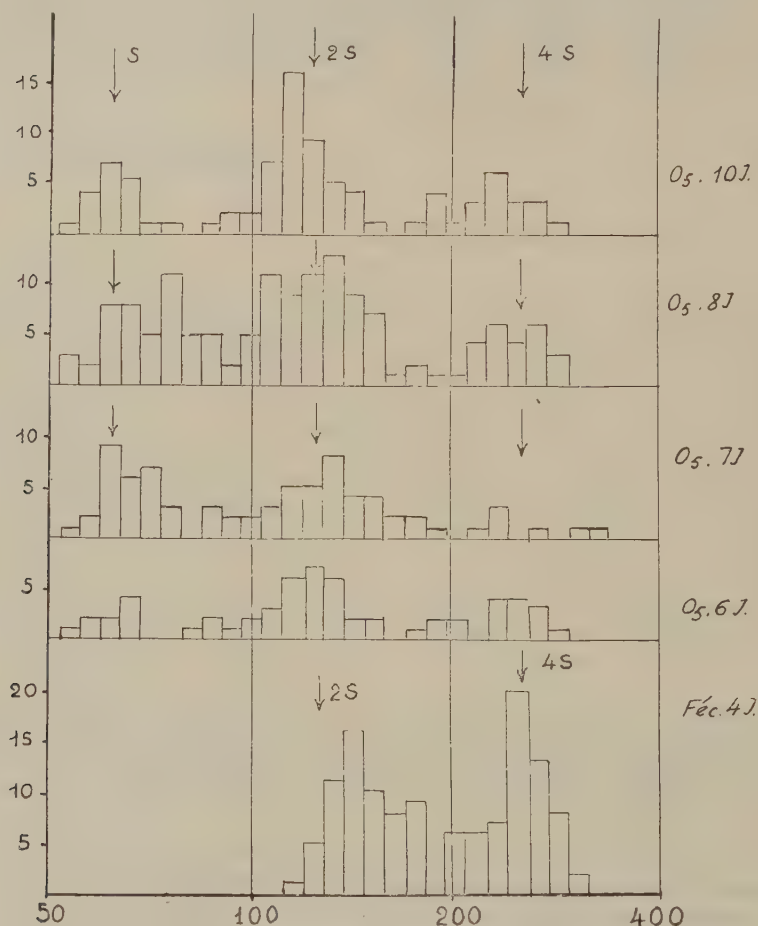


Fig. 35. — Teneur en ADN des noyaux de blastodermes prélevés sur des œufs vierges de la souche O_5 entre 6 et 10 jours d'incubation. En bas, blastoderme d'œuf fécondé servant de témoin. La nature trimodale des histogrammes traduit la composition mixte (haploïde-diploïde) du blastoderme dès qu'il est possible de le prélever pour la souche O_5 .

donnant le plus fort pourcentage d'éclosions parthénogénétiques, est la moins susceptible de nous fournir des images cytologiques aberrantes appartenant à des embryons anormaux.

Dans cette souche, les mesures histophotométriques dès qu'elles sont possibles montrent toujours un mélange de cellules haploïdes et diploïdes (fig. 35)

et l'on constate que la diploïdisation est presque achevée au moment où débute la formation de la bandelette germinative. Pourtant, il existe bien ici aussi une phase haploïde initiale mais elle ne dépasse guère le 4^e jour d'incubation des œufs. Or, à cette époque, le nombre de noyaux à la surface du vitellus est relativement petit, quelques centaines seulement, et les vitello-

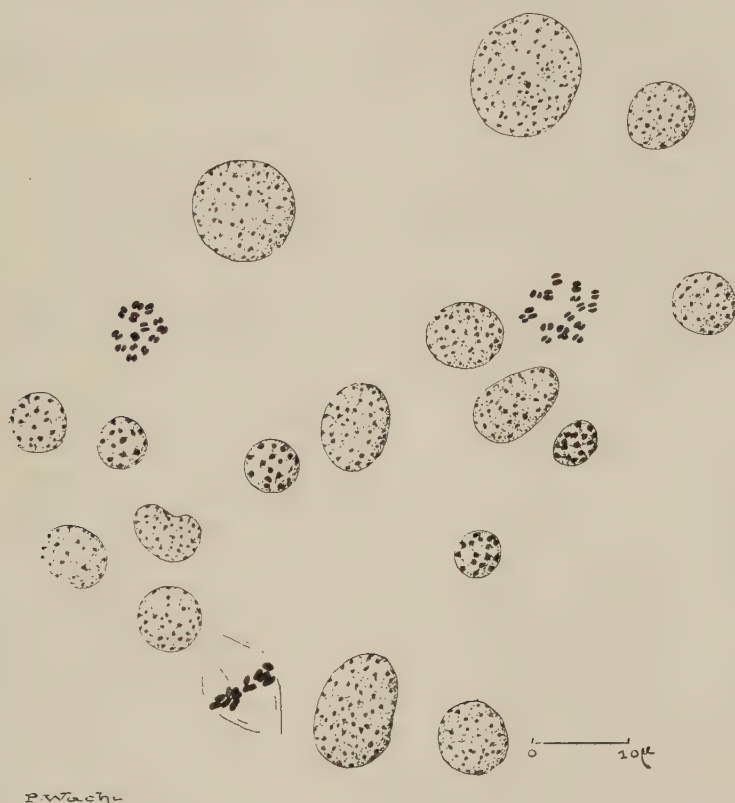


Fig. 36. — Blastoderme *in toto* d'un œuf vierge de la souche O₅. Noter le petit nombre de noyaux et leur taille très variable (on peut faire la comparaison avec les figures 26 et 27) et la présence de deux mitoses bloquées à côté d'une mitose normale probablement haploïde.

phages n'ont pas encore fait leur apparition. On ne peut donc prélever le blastoderme pour en effectuer un montage *in toto*. Cependant, en prélevant la calotte embryonnaire d'œufs incubés depuis 3 jours, on peut effectuer des écrasements qui montrent toujours quelques mitoses, toutes haploïdes. Dès cette époque, d'ailleurs, certaines sont des métaphases bloquées du type déjà décrit. Les écrasements portant soit sur des calottes embryonnaires d'œufs ayant subi une incubation de 4 ou 5 jours, soit sur des blastodermes décollés du vitellus d'œufs âgés de 6 à 8 jours montrent toujours un mélange de mitoses normales, haploïdes et diploïdes, et de mitoses bloquées (tableau XV).

Ainsi, malgré l'impossibilité d'étudier quantitativement le début du phénomène, à cause du nombre trop faible de cellules, le phénomène de diploïdisation est fondamentalement le même que pour la souche N_4 . La seule différence est qu'il se produit beaucoup plus tôt dans l'embryologie et que les cellules haploïdes n'ont pas le temps de constituer un tissu interne; ce qui explique l'absence totale de pycnoses au cours du développement. Cette absence de pycnoses, jointe au fait que les cellules diploïdes apparaissent ici avant la formation des vitellophages fournit d'ailleurs de nouveaux arguments de poids en faveur du rôle unique des mitoses bloquées de type colchicinique dans la diploïdisation.

TABLEAU XV

*Index mitotique dans des embryons d'œufs vierges
de la souche O_5 après 8 jours d'incubation.*

Embryon	Nombre de cellules	Index total o/o	Index mitoses normales o/o	Index anaphasique o/o
N° 1.	1.299	43,8	35,4	16,9
N° 2.	565	42,5	28,4	14,2
N° 3.	1.099	35,5	24,8	12,7
N° 4.	618	51,8	32,3	14,5
N° 5.	882	63,5	39,7	19,3
Total	4.463	46,6	31,6	15,7

Les faits que nous venons de décrire concernent la souche O_5 , mais ils sont à peu près les mêmes pour les autres souches. Le seul cas intéressant à noter me semble être, à ce sujet, celui de la souche O_3 . Nous avons déjà signalé que le pourcentage d'éclosions y est relativement fort mais qu'il s'y produit une très forte mortalité au cours du premier stade larvaire. Or, dans cette souche, les écrasements d'embryons même s'ils ont dépassé le stade d'évolution 15 jours montrent toujours quelques mitoses haploïdes, alors qu'à ce stade, on ne trouve plus du tout de mitoses bloquées. Nous trouvons donc ici un cas rappelant celui que CAPPE DE BAILLON, FAVRELLE et DE VICHET (1935) ont signalé pour *Menexenus semiarmatus*. Il faut noter toutefois que cette souche O_3 ne m'a jamais montré de neuroblaste polyploïde. La subsistance de cellules haploïdes après disparition du phénomène de blocage porte à croire que ces cellules continuent à se développer dans l'embryon et peuvent rendre compte de la fragilité des jeunes larves.

Il semble donc que chez *Clitumnus extradentatus* l'organisme supporte difficilement la présence de cellules haploïdes. Nous avons vu en effet que la présence d'au moins quelques cellules diploïdes est nécessaire à la gastrulation et que dans la souche N_4 le développement de l'embryon se trouve retardé tant que les cellules haploïdes ne sont pas éliminées, de même la subsistance de quelques pour cent seulement de cellules haploïdes dans la souche O_3 paraît rendre compte de la fragilité des larves. Mais ce fait

s'accompagne d'un pouvoir remarquable de régulation bien supérieur à celui des Acridiens étudiés par KING et SLIFER (1934), par exemple.

Au terme de ce chapitre, nous avons donc répondu à la principale question posée par la parthénogenèse des Phasmides puisque le mécanisme cytologique en apparaît maintenant clairement. Il s'agit tout au moins dans le cas de *Clitumnus extradentatus*, d'une parthénogenèse facultative essentiellement basée sur deux faits dont la combinaison permet d'obtenir des embryons diploïdes viables. Le premier, qui est assez général, et même peut-être tout à fait général chez les Orthoptéroïdes, est la possibilité pour l'œuf d'accomplir sans fécondation ses deux divisions de maturation et de commencer sa segmentation sans le secours du spermatozoïde. Mais, dans la plupart des cas, nous retrouvons ici une deuxième barrière à la parthénogenèse, la constitution haploïde des cellules, qui permet aussi d'expliquer la difficulté d'obtenir des individus normaux par parthénogenèse expérimentale dans d'autres groupes d'animaux. C'est alors qu'intervient le mécanisme régulateur que nous venons d'étudier, les cellules haploïdes se montrent incapables de poursuivre longtemps les divisions de segmentation et on assiste à un blocage progressif des mitoses qui est le mécanisme même de la diploïdisation. Il semble bien qu'il en soit de même chez de nombreux Orthoptéroïdes (en particulier les Acridiens étudiés par KING et SLIFER, 1934 et par SWANN et MICKY, 1947). Mais l'originalité de *Clitumnus extradentatus* paraît bien être que les premiers stades de l'embryologie n'y sont pas compatibles avec une situation haploïde des cellules, ce qui permet de retarder la constitution de l'embryon jusqu'au moment où la diploïdisation est pratiquement complète (par exemple dans la souche N_4) et donc d'empêcher la formation d'embryons mixtes haplo-diploïdes non viables, comme c'est le cas chez les Acridiens. On obtient ainsi une parthénogenèse régulière où la régulation du nombre des chromosomes est très tardive. Le cas qui s'en rapproche le plus chez les Insectes est celui de *Solenobia triquetrella* étudié par SEILER et SCHAEFFER (1938-1941) où les fusions des noyaux de segmentation ont lieu dès les premières divisions.

C'est justement vers cet accord nécessaire entre le nombre de stocks de chromosomes des cellules et le développement embryologique que nous allons maintenant nous tourner en considérant quelles sont les possibilités d'obtenir des embryons polyplloïdes.

CHAPITRE V

DÉVELOPPEMENT DES ŒUFS A 18°.

POSSIBILITÉ D'OBTENIR DES EMBRYONS POLYPLOIDES

I. — Développement des œufs fécondés.

Nous venons de voir que la régulation chromosomique des œufs non fécondés se présente en quelque sorte chez *Clitumnus extradentatus* comme le résultat d'un premier cycle de polyplloïdisation des cellules. Il est donc naturel

de se demander s'il ne serait pas possible, par des traitements appropriés, d'obtenir des individus totalement ou partiellement polyploïdes. L'obtention de tels individus serait en effet du plus haut intérêt car elle permettrait d'aborder, d'un point de vue expérimental, la question de la liaison si souvent constatée entre la polyploïdie et la parthénogenèse et plus particulièrement la parthénogenèse géographique (VANDEL, 1928 ; SEILER, 1949).

Dans le but d'obtenir des individus polyploïdes on peut penser à différentes techniques expérimentales dont les principales sont l'emploi de la colchicine, d'une part, et les chocs thermiques, d'autre part. La première technique n'a donné jusqu'ici qu'assez peu de résultats chez les animaux, alors qu'elle s'est révélée d'un emploi extrêmement fécond pour les végétaux. De plus, il n'est guère facile de l'appliquer à un œuf en cours de développement. J'ai donc préféré m'adresser à la seconde dont la réalisation pratique est beaucoup plus facile. Quelques essais pratiqués dans le sens d'une élévation passagère de la température ne m'ont donné aucun résultat et j'ai même constaté qu'il suffit de soumettre à 38°, pendant quelques heures, des œufs incubés à 27° depuis 8 à 9 jours, pour y provoquer une mortalité extrêmement élevée. Au contraire, les chocs de froid sont très bien supportés par les œufs jusqu'à des températures nettement inférieures à 0° pourvu que l'exposition ne dépasse pas quelques heures. C'est donc vers cette dernière méthode que je me suis tourné. C'est d'ailleurs celle qu'ont employée avec succès FANKHAUSER et GRIFFITHS sur les œufs d'Amphibiens (1939) et MICKY et BLOUNT (1951) sur l'œuf de *Drosophila*.

J'ai tenté d'appliquer cette méthode à des œufs fécondés ayant subi une incubation de 9 jours, c'est-à-dire parvenus au moment où les neuroblastes commencent à se diviser activement dans l'embryon. Cependant, ces œufs portés à 0° ou à 8° pendant des temps variables ne m'ont jamais donné de figures cytologiques pouvant conduire à une polyploïdisation et de plus les embryons sacrifiés quelques jours après avoir été ramenés à 27° ne montrent jamais de mitoses polyploïdes. Il est pourtant possible que cette méthode donne des résultats sur d'autres stades embryonnaires mais je n'ai pas poursuivi ces tentatives, ayant trouvé accidentellement un autre moyen d'obtenir une polyploïdisation.

Dans des essais effectués pour déterminer l'étendue de la zone de température compatible avec le développement de l'œuf, j'ai en effet constaté que cette zone se situe environ entre 18° et 36°. Mais ces deux limites ne sont pas du tout équivalentes. Au-dessus de 36°, l'embryon ne se développe pas et, même après un séjour assez court à cette température, l'œuf devient définitivement incapable de se développer, après retour à 27°. A une température légèrement inférieure (32°), le développement est parfaitement normal et met une quarantaine de jours à s'effectuer. Placé à une température très inférieure à 18°, l'œuf ne se développe pas, mais reste très longtemps capable de développement si on le ramène à 27°. Des œufs fécondés placés à 9° pendant plus de 6 mois restent ainsi capables d'un développement normal. Mais le point le plus intéressant est l'allongement considérable de la durée de développement embryonnaire des œufs placés à une température voisine de la limite inférieure. A 18°, on obtient ainsi environ 80 o/o d'éclosion mais après un temps qui varie entre 150 et 300 jours à partir de la ponte. Pour une

température légèrement plus basse, le pourcentage d'éclosions diminue et les œufs qui y sont restés un certain temps et n'ont pas éclos deviennent incapables de le faire si on les ramène ensuite à 27°.

L'étude embryologique des œufs maintenus à 18° révèle un fait assez curieux ; on retrouve en effet au début du développement des anomalies analogues à celles que nous avons déjà décrites pour les œufs parthénogénétiques de la souche N_4 . Au début, la prolifération des noyaux à la surface du vitellus se fait normalement, mais plus lentement que dans les œufs conservés à 27°. Il ne se produit pas de véritable gastrulation ; on assiste seulement à une migration progressive de cellules dans le vitellus sous-jacent. Puis des métaphases bloquées apparaissent progressivement, tout à fait analogues à celles que l'on voit apparaître dans les œufs parthénogénétiques de la souche N_4 (fig. 37) ; le nombre de diplochromosomes est cette fois égal à 37 ou 38 suivant qu'il s'agit d'un embryon mâle ou femelle. Les tissus situés dans la profondeur du vitellus deviennent progressivement pycnotiques, alors que dans la couche superficielle les pycnoses sont très rares et que l'on voit apparaître de place en place de gros noyaux très probablement tétraploïdes (planche IV, photos 8 et 9). A 18°, le développement de l'œuf reste bloqué pendant très longtemps à cet état (plus de deux mois) ; cependant, la plupart des embryons arrivent à surmonter cette crise et à former finalement une bandelette germinative. D'ailleurs on peut très facilement provoquer cette formation en reportant les œufs à 27°. On a alors une évolution qui rappelle celle des embryons parthénogénétiques ; la bandelette germinative s'organise très rapidement en surface pendant que la pycnose des tissus internes s'accélère et, au bout d'une dizaine de jours, l'embryon est redevenu parfaitement normal. Cependant les cellules polyploïdes restent très rares dans ces embryons et il semble qu'il soit impossible d'obtenir par cette voie des individus véritablement polyploïdes.

Il est toutefois remarquable que par un abaissement de la température de développement on puisse obtenir dans les œufs fécondés des phénomènes embryologiques et cytologiques exactement superposables à ceux que nous avons jusqu'ici attribués à la présence de cellules haploïdes dans les œufs vierges. Tout se passe donc comme si la cellule haploïde avait un métabolisme inférieur à celui de la cellule diploïde et qu'on puisse réaliser le même abais-

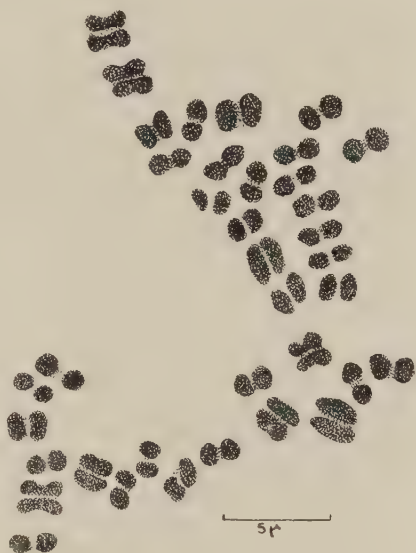


Fig. 37. -- Mitose diploïde bloquée obtenue dans un écrasement (carmin acétique) d'un blastoderme d'œuf fécondé laissé à 18° pendant 35 jours après la ponte.

sement de métabolisme dans la cellule diploïde en abaissant la température, le blocage des mitoses et le défaut de gastrulation étant les traductions visibles de cet abaissement du métabolisme. Dans le cas des œufs vierges développés à 27°, il suffit que le blocage des mitoses conduise à un certain nombre de cellules diploïdes pour que le métabolisme s'élève et que se produise la gastrulation, les dernières cellules haploïdes s'éliminant progressivement.

Dans le cas des œufs fécondés développés à 18° les cellules polyploïdes résultant du blocage des mitoses n'ont probablement aucun avantage sélectif par rapport aux cellules diploïdes, ou même se trouvent désavantagées, ce qui interdit la constitution d'embryons polyploïdes. On retrouve ici un exemple de l'accord qui semble exister entre la fonction particulière d'une cellule et son degré de ploïdie dont les faits de polyploïdie somatique nous montrent tant d'exemples.

Un autre fait important que l'on rencontre dans les œufs fécondés développés à 18° est l'existence de mitoses partiellement bloquées (planche IV, photo 10). Les chromosomes non groupés en plaque métaphasique y sont plus courts que dans les métaphases normales et presque tous doubles (diplochromosomes) tandis que certains ont l'air d'avoir conservé une structure unique. Dans la majorité des cas, les chromosomes en V se trouvent parmi ceux qui ne sont pas dédoublés. Or, chez la plupart des Phasmes dont on connaît la formule chromosomique, l'hétérochromosome est métacentrique et nettement plus grand que les autosomes. Il se pourrait donc que les quelques rares mâles et les gynandromorphes qui apparaissent assez régulièrement dans certaines espèces parthénogénétiques (ex. *Carausius*, PEHANI, 1925 ; CAPPE DE BAILLON, 1931) n'aient pas d'autre origine qu'une non-disjonction de l'X portant sur la totalité ou sur une partie plus ou moins grande des cellules au moment de la diploïdisation. De plus, l'effet de la température sur le blocage des mitoses permet d'espérer la réalisation expérimentale d'un gynandromorphisme plus ou moins poussé dans de telles espèces. Quelques essais faits jusqu'ici chez *Clitumnus extradentatus* n'ont pas été couronnés de succès. Nous avons déjà noté l'apparition d'un mâle dans les élevages parthénogénétiques, mais il ne présentait morphologiquement et cytologiquement aucune trace de gynandromorphisme.

II. — Développement des œufs parthénogénétiques à 18°

Il est intéressant de considérer ce qu'il advient des œufs vierges maintenus à 18°. Les phénomènes y sont assez analogues à ceux que montrent les œufs fécondés, mais la première phase de développement haploïde se trouve allongée d'une manière très considérable et le blocage des mitoses et des mouvements embryonnaires n'apparaît que beaucoup plus tard. Il s'accompagne ici encore de l'apparition dans l'assise superficielle de cellules diploïdes qui donneront naissance dans certains œufs à des embryons capables de se développer complètement. Généralement, le taux des œufs vierges qui éclosent à 18° est assez faible et les larves obtenues sont très fragiles. Ainsi, dans deux essais faits sur des œufs de la souche N₄, j'ai obtenu respectivement 39 éclosions

pour 233 œufs, soit 16,7 o/o et 91 éclosions pour 402 œufs, soit 22,6 o/o. Les chiffres obtenus pour la souche O₃ sont analogues. Pourtant il faut noter que l'ouverture des œufs montre l'existence d'un grand nombre d'embryons achevés et que des œufs maintenus plusieurs mois à 18° puis ramenés à 27° donnent des pourcentages d'éclosions plus élevés voisins de 50 o/o. Contrairement à ce qui se passe à 27° le temps moyen de développement des œufs parthénogénétiques est assez peu différent de celui des œufs fécondés :

Fécondés, moyenne sur 211 éclosions.....	212 jours
Parthénogénétiques N ₄ (deux mesures) sur 89 éclosions.	224 jours
Et sur 37 éclosions	223 jours

Ceci tient au fait que la phase de prolifération anormale des cellules à l'intérieur du vitellus y est relativement courte et peu marquée par rapport à ce qui se produit à cette température pour les œufs fécondés.

Il existe donc une action différentielle de la température sur les œufs fécondés et sur les œufs vierges. A 27°, les cellules diploïdes se développent normalement et il n'existe pas pour elles de phénomènes de blocage. Au contraire, à cette température les cellules haploïdes se trouvent sélectivement bloquées et donnent en surface des cellules diploïdes, qui sont à l'origine du futur embryon.

TABLEAU XVI

*Etat d'évolution des œufs fécondés
mis à 18° aussitôt après la ponte.*

Stade par rapport au développement à 27 °	19 jours	28 jours	43 jours
Pas de bande germinative	15	17	11
5 jours	13	11	7
5 jours + tissu abortif	0	21 } 32	37 } 44
6 jours	2	15	8
7 jours		10	1
8 jours		3	1
9 jours		1	0
10 jours			3
11 jours			2
12 jours			1
13 jours			2
Total.	30	78	73

A 18° les cellules diploïdes sont encore capables de mitose mais avant la gastrulation se produit un blocage donnant naissance en surface à des cellules polyploïdes et à l'intérieur du vitellus à des formations abortives très volumineuses. Dans les œufs vierges, les cellules haploïdes se développent à cette température avec une extrême lenteur et le blocage des mitoses intervient à un stade très précoce de l'évolution si bien que, pendant très longtemps il n'existe dans ces œufs qu'un petit nombre de cellules dispersées au pôle

postérieur à la surface du vitellus. Ainsi des œufs de la souche N_4 examinés après une incubation de 22, 43 ou 64 jours à 18° ne montrent aucune bandelette germinative alors que les œufs fécondés se développent beaucoup plus vite (tableau XVI).

Il est donc manifeste qu'à cette température moyenne l'œuf fécondé s'engage dans un développement anormal alors que l'œuf vierge prolonge très longtemps sa segmentation. Nous verrons dans un instant que ce comportement différentiel aux variations de température peut nous fournir une base d'interprétation de la répartition géographique de la parthénogenèse chez les Phasmides.

CONCLUSION

Nous pouvons maintenant faire le point de ce que nous apporte l'étude de la parthénogenèse facultative de *Clitumnus extradentatus* pour une interprétation de ce phénomène chez les Phasmes.

A partir de cette espèce bisexuée, il a été possible d'isoler des souches à parthénogenèse thélytoque régulière continue. En fait, cette parthénogenèse reste facultative et donc du type que l'on rencontre par exemple chez *Bacillus rossii* dans le midi de la France. Le mécanisme cytologique de cette parthénogenèse permet de la rapprocher de la parthénogenèse accidentelle des autres Orthoptéroïdes, en particulier de celle des Acridiens. Mais le fait original est qu'il se produit une régulation parfaite ne conduisant pratiquement jamais à des embryons présentant un mélange de cellules haploïdes et diploïdes comme c'est généralement le cas chez les Acridiens. C'est ce fait qui permet à la parthénogenèse des Phasmides de constituer le cas le plus tardif connu de régulation chromosomique dans une parthénogenèse régulière.

On peut reprendre à la lumière de cette étude les deux questions que nous avons posées dans le premier chapitre : d'une part le caractère polyploïde possible de la parthénogenèse des Phasmides et d'autre part son caractère souvent géographique. Il est évident que nous ne pouvons pas répondre d'une manière définitive à ces questions, cependant l'étude présente nous permet d'entrevoir des explications de ces deux faits et même d'envisager des vérifications expérimentales de ces hypothèses.

La polyploïdie nous apparaît maintenant chez les Phasmes comme un phénomène cellulaire normal. Le mécanisme régulateur qui permet aux œufs vierges de produire des embryons entièrement diploïdes peut aussi jouer sur des embryons déjà diploïdes et fournir des individus totalement ou partiellement polyploïdes. Nous avons vu que chez *Clitumnus extradentatus* un abaissement de la température du développement permet de faire apparaître ce phénomène sur des embryons issus d'œufs fécondés et devrait donc théoriquement permettre d'obtenir des embryons tétraploïdes. En fait, dans cette espèce, les événements ne se poursuivent pas jusqu'à leur terme normal, les cellules tétraploïdes ne présentant probablement aucun avantage sélectif par rapport aux cellules diploïdes. Mais il est impossible de dire si dans certaines conditions climatiques ou dans d'autres espèces il n'en serait pas différem-

ment. La polypléidie somatique extrêmement fréquente chez les Phasmes et l'existence dans les testicules de cystes tétraploïdes nous apportent d'autres témoignages d'une propriété cellulaire permanente conduisant à la polypléidisation. Il est donc certain que, chez les Phasmes, il existe bien une liaison étroite entre la polypléidie et la parthénogénèse, puisque le même mécanisme cytologique, d'une part assure la régulation des embryons issus d'œufs vierges et, d'autre part, paraît capable de fournir à la sélection naturelle d'une manière assez constante des individus totalement ou partiellement polypléïdes, pouvant, dans certaines conditions climatiques, donner naissance à des races polypléïdes.

Notons, d'ailleurs, qu'un tel mécanisme ne peut expliquer l'existence que de races $4n$ ou $8n$ par exemple, du moins approximativement. En effet, on peut toujours envisager la possibilité de la perte de certaines paires de chromosomes représentées dans la cellule polypléïde à plusieurs exemplaires, par un mécanisme incluant d'abord une non-disjonction au cours du redoublement dans l'embryon parthénogénétique, puis une élimination de l'univalent ainsi formé à la méiose suivante.

Ainsi, contrairement à ce que l'on considère souvent dans d'autres groupes animaux, l'établissement d'une race parthénogénétique polypléïde ne résulterait pas ici de la sélection portant sur un organisme devenu accidentellement polypléïde et ayant dû acquérir en même temps la faculté de développement parthénogénétique, désormais nécessaire pour assurer la subsistance de l'espèce. Chez les Phasmes, la polypléidisation apparaît comme un mécanisme permanent de même que la parthénogénèse et les individus pouvant donner naissance à des races polypléïdes parthénogénétiques doivent apparaître d'une manière assez courante au cours de la vie de l'espèce.

De plus, nous avons vu, au cours du dernier chapitre, que le mécanisme cytologique responsable de cette situation se montre manifestement sous la dépendance des conditions de température, on peut donc envisager le caractère géographique de la parthénogénèse de nombreux Phasmes comme relevant d'une simple adaptation au milieu. Certaines conditions climatiques favorisant la reproduction bisexuée, d'autres la reproduction parthénogénétique. Sans doute est-il possible d'envisager qu'en bordure nord de leur répartition géographique, par suite des conditions de température défavorables à l'espèce, celle-ci passe certaines années par des effectifs très restreints provoquant pratiquement l'isolement des individus et en particulier des femelles qui, nous l'avons vu, sont moins fragiles que les mâles. Ces femelles isolées peuvent naturellement donner naissance à des souches purement parthénogénétiques. Mais on peut aussi tenter de dégager des faits embryologiques et cytologiques, mis en évidence sur *Clitumnus extradentatus*, un avantage sélectif jouant au niveau de l'embryon en faveur des œufs vierges.

Les œufs de Phasmes sont dans nos régions pondus surtout en automne au moment où la température extérieure va en s'abaissant progressivement. Les œufs vierges, haploïdes au début de leur développement, atteignent donc rapidement un état d'arrêt des mitoses et pourraient passer l'hiver à l'état de blastoderme peu avancé. Au printemps, la remontée de la température permettrait à nouveau aux cellules haploïdes de se diviser et sitôt la régulation faite, l'embryon désormais diploïde se trouverait d'emblée dans une zone de

température favorable à son développement. Pour les œufs fécondés, au contraire, les températures moyennes de l'automne permettraient un début de développement assez important, mais la température n'étant pas assez élevée, et s'abaissant d'ailleurs progressivement, les mouvements embryonnaires, gastrulation, rotation de l'embryon à la surface du vitellus, pourraient se trouver retardés, la prolifération des cellules continuant à donner des formations anormales, comme c'est le cas dans les œufs fécondés de *Clitumnus*, maintenus à 18°. Il est donc possible de considérer que ces embryons puissent atteindre le printemps dans un état assez anarchique, ne leur permettant plus de donner un développement normal.

Il ne s'agit naturellement là que d'une hypothèse suggérée par le comportement différentiel des œufs vierges et fécondés de *Clitumnus* aux différentes températures. Mais cette hypothèse a l'avantage de nous présenter une base concrète d'étude expérimentale de la parthénogenèse géographique chez les Phasmides. Il est certain, d'ailleurs, que des expériences de ce type seraient sans doute plus fructueuses à poursuivre sur une espèce où la parthénogenèse géographique est bien connue ainsi que les conditions climatiques d'habitat, par exemple *Bacillus rossii*.

RÉSUMÉ

Ce travail est consacré à l'étude de la parthénogenèse facultative chez un Phasmide, *Clitumnus extradentatus*, au triple point de vue biologique, embryologique et cytologique.

Le premier chapitre expose l'état de nos connaissances dans les nombreux cas signalés de parthénogenèse constante, facultative ou accidentelle dans ce groupe. Les faits connus amènent à penser qu'il n'existe aucune distinction qualitative entre ces différents types de parthénogenèse et que celle-ci présente assez souvent un caractère géographique. Au point de vue cytologique, nos connaissances sont assez fragmentaires et rendent souhaitables de nouveaux travaux pour comprendre le mécanisme cytologique de la régulation et la liaison qui semble exister entre parthénogenèse et polyploidie. Enfin, en dehors des Phasmes, l'ensemble des Orthoptéroïdes présente de nombreux cas de parthénogenèse accidentelle.

Le deuxième chapitre, consacré aux caractéristiques biologiques de la parthénogenèse chez *Clitumnus extradentatus*, donne d'abord les raisons du choix de cette espèce bisexuée dont les œufs vierges présentent un taux d'éclosions très élevé, avant toute sélection. Il fixe ensuite les méthodes d'élevage et décrit l'isolement de souches à parthénogenèse réellement facultative (taux d'éclosion des œufs vierges identique à celui des œufs fécondés). On a pu mettre en évidence l'existence dans l'élevage de départ de deux types de gènes léthaux provoquant la mort des embryons, soit au stade de segmentation, soit après l'achèvement de l'organogenèse, juste avant l'éclosion. La transmission des différentes caractéristiques analysées : fécondité des femelles, pourcentage d'éclosions, durée du développement embryonnaire, poids des œufs, facteurs de coloration des animaux eux-mêmes et du vitellus de l'œuf, est favorable à l'hypothèse de l'homozygotie des descendants parthénogénétiques.

L'étude montre de plus que les œufs vierges se séparent très nettement des œufs fécondés grâce à l'allongement de la durée du développement embryonnaire. Dans les conditions de l'élevage (27°C) les œufs fécondés éclosent 43 jours environ après la ponte alors que pour les œufs parthénogénétiques ce temps est d'environ 56 jours dans la plupart des souches, l'une d'elles (N_4) manifestant un retard plus considérable (durée du développement embryonnaire 64 jours environ). L'examen des modalités d'établissement de ce retard caractéristique des œufs vierges va permettre d'isoler les stades intéressants du développement.

Le troisième chapitre comporte donc l'étude embryologique comparée des œufs vierges et fécondés. Il débute par l'établissement d'une chronologie du développement des œufs fécondés. La comparaison montre ensuite que les œufs parthénogénétiques des souches qui présentent à l'éclosion une douzaine de jours de retard, acquièrent tout ce retard au cours de la période de segmentation. Plus rien ne distingue ensuite la chronologie du développement dans les deux types d'œufs. Le stade de segmentation paraît donc être celui où il sera intéressant de suivre les phénomènes cytologiques. Dans la souche N_4 où le retard à l'éclosion est plus considérable (environ 20 jours) on constate un allongement de la période de segmentation de l'œuf vierge, prolongée par une phase de multiplication anormale des cellules qui envahissent progressivement le vitellus sous-jacent. Lors de la formation en surface de la bandelette germinative, il y aura élimination de tout ce tissu interne avec dégénérescence pycnotique des noyaux.

Le quatrième chapitre est consacré à l'étude des phénomènes cytologiques de la régulation chromosomique. On constate que tous les œufs vierges commencent leur développement en ne possédant que des noyaux haploïdes. Ce fait est établi aussi bien par des numérations chromosomiques que par des mesures histophotométriques de la teneur en acide désoxyribonucléique des noyaux. J'ai pu suivre d'une manière complète l'apparition des cellules diploïdes formatrices de l'embryon et la disparition des cellules haploïdes dans la souche N_4 , où ce phénomène est un peu plus tardif que dans les autres souches. On constate qu'il existe une liaison étroite entre les faits cytologiques et embryologiques; la gastrulation demande pour s'accomplir l'existence d'au moins quelques cellules diploïdes et la formation des neuroblastes, qui n'est jamais le fait que de cellules $2n$, ne s'accomplit jamais avant que le taux de cellules n de l'embryon ne tombe au-dessous de 30 o/o.

Le mécanisme cytologique de cette diploïdisation est une mitose bloquée de type colchicinique. Il n'est effectif que dans la couche de cellules superficielles. Dans les couches profondes, il aboutit normalement à la pycnose du noyau et assure l'élimination du tissu interne. Pour les autres souches parthénogénétiques étudiées, le mécanisme de régulation chromosomique est fondamentalement le même; mais il se réalise plus tôt au cours de la segmentation. A ce point de vue, *Clitumnus extradentatus* se rapproche donc des Acridiens qui présentent de nombreux cas de parthénogénèse accidentelle mais chez lesquels la régulation chromosomique est généralement incomplète et aboutit à des individus peu viables dont les tissus comportent un mélange de cellules n et $2n$.

Le cinquième chapitre comprend l'étude du développement des œufs

fécondés à une température plus basse (18° C). On retrouve ici les faits embryologiques signalés pour les œufs vierges de la souche N₁ : prolongation de la phase de segmentation avec migration de cellules à l'intérieur du vitellus. Mais le fait le plus curieux est que l'on voit apparaître en même temps des mitoses diploïdes bloquées qui aboutissent à la constitution de gros noyaux polyplloïdes. Cependant, les embryons qui finissent par se développer à cette température sont presque entièrement diploïdes. A la même température, les œufs vierges présentent une segmentation extrêmement lente.

Cette différence de comportement, aux différentes températures du développement des œufs vierges et fécondés, peut servir de base à une interprétation des faits de parthénogenèse géographique.

BIBLIOGRAPHIE

1925. — ADAIR (E. W.). — On parthenogenesis in *Miomantis savignyi* Sauss. *Bull. Soc. Ent. Egypte*, **17**, 104-148.
1907. — VON BAEHR (W. B.). — Über die Zahl der Richtungskörper in parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von *Bacillus rossii*. *Zool. Jahr. Anat.*, **24**, 175-192.
1905. — BÉRENGUIER (P.). — Notes Orthoptérologiques. I. La magicienne dentelée, *Saga serrata*. *Bull. Soc. Sci. Nat. Nîmes*, **33**, 145-154. — 1909. — Capture du véritable mâle de *Bacillus gallicus* Charp. *Bull. Soc. Entomol. Fr.*, 73-75.
1954. — BERGERARD (J.). — Parthénogenèse facultative de *Clitumnus extradentatus* Br. (Phasmidæ). *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **79**, 169-175. — 1955. — Synthèse de l'acide thymonucléique au cours du cycle mitotique des neuroblastes et des cellules nerveuses embryonnaires d'un Insecte, *Clitumnus extradentatus* Br. (Phasmidæ). *C. R. Acad. Sci.*, **240**, 564-567. — 1955. — Mécanique cytologique de la parthénogenèse thélytoque facultative de *Clitumnus extradentatus* Br. (Phasmidæ). *Ibidem*, **240**, 1143-1145.
1953. — BERGERARD (J.) et TUCHMANN-DUPLESSIS (H.). — Effet de l'hypophysectomie et action de l'hormone somatotrope sur la teneur en acide désoxyribonucléique des noyaux hépatiques chez le Rat. *C. R. Acad. Sci.*, **236**, 1080-1082.
1955. — BRIGGS (R.) et KING (T. J.). — Specificity of nuclear function in embryonic development. *Biological specificity and growth*, éd. par BUTLER, E. G., Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 207-228.
1927. — CAPPE DE BAILLON (P.). — Recherches sur la tératologie des Insectes. *Encycl. Entomol.*, **8**, Lechevalier, Paris. — 1928. — Embryologie tératologique chez les Phasmides (*Menexenus semiarmatus* Westw. et *Clitumnus artemis* Br.) *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **62**, 378-387. — 1931. — La descendance des monstres de Phasmides. *Encycl. Entomol.*, **14**, Lechevalier, Paris. — 1939. — Sur la parthénogenèse des Tettigoniidæ (Orthoptères). *C. R. Acad. Sci.*, **208**, 463-465. — 1940. — L'embryogénie des monstres doubles de Phasmes. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **74**, 197-247.
- 1934-1938. — CAPPE DE BAILLON (P.), FAVRELLE (M.) et VICHET (G. DE). — Parthénogenèse et variation chez les Phasmes. I. *Baculum artemis* Westw., *Carausius theiseni*, n. sp. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **63**, 109-166. — II. *Carausius furcillatus* Pant., *Menexenus semiarmatus* Westw. *Id.*, **69**, 1-46. — III. *Bacillus rossii* Rossi, *Epi-bacillus lobipes* Luc., *Phobæticus sineti* Br., *Parasosibia parva* Redt., *Carausius rotundo-lobatus* Br. *Id.*, **71**, 129-189. — IV. Discussion des faits; Conclusions. *Id.*, **72**, 1-46.
1940. — CAPPE DE BAILLON (P.) et VICHET (G. DE). — La parthénogenèse des espèces du genre *Leptynia* Pant. (Orthopt. Phasmidæ). *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **74**, 43-87.
1940. — CASPERSSON (T.). — Methods for the determination of the absorption spectra

- of cell structures. *J. Roy. Microscop. Soc.*, **60**, 8-25. — 1950. — *Cell growth and cell function*. W. W. Norton and Co., New York.
1919. — CHOPARD (L.). — Description d'une espèce nouvelle du genre *Myrmecophila* (Orthopt. Gryllidæ) et remarques sur la sexualité chez les espèces de ce genre. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **44**, 339-346. — 1920. — A propos des mâles de Bacilles de la collection Bérenghier (Orthopt. Phasmidæ). *Bull. Soc. Entomol. Fr.*, 232-233.
- 1938. — La Biologie des Orthoptères. *Encycl. Entomol.*, **20**. Lechevalier, Paris.
- 1943. — Orthoptéroïdes de l'Afrique du Nord. *Faune de l'Empire français*. **1**. Larose, Paris. — 1948. — La parthénogenèse chez les Orthoptéroïdes. *Ann. Biol.*, **24**, 15-22. — 1951. — Orthoptéroïdes. *Faune de France*. Lechevalier, Paris.
1938. — CREIGHTON (M.). — Parthenogenesis in *Chorthippus curtipennis*. *Genetics*, **23**, 145.
1941. — CREIGHTON (M.) et ROBERTSON (W. R. B.). — Genetic studies on *Chorthippus longicornis*. *J. hered.*, **32**, 339-341.
1932. — DARLINGTON (C. D.). — *Recent advances in cytology*. 2^e éd., Churchill, London.
1942. — DARLINGTON (C. D.) et LACOUR (L. F.). — *The handling of chromosomes*. Allen and Unwin, London.
1948. — DI STEPHANO (H. S.). — A cytochemical study of the Feulgen nuclear reaction. *Chromosoma*, **3**, 282-301.
1896. — DOMINIQUE (J.). — Notes orthoptérologiques. La parthénogenèse chez le *Bacillus gallicus* Charp. *Bull. Soc. Sci. Nat. Ouest*, **6**, 67. — 1899. — Parthénogenèse et thélytoquie chez les Phasmides. *Bull. Soc. Sci. Nat. Ouest*, **9**, 127-136.
1956. — DUPONT-RAABE (M.). — Les mécanismes de l'adaptation chromatique chez les Insectes. *Thèse Paris. Arch. Zool. exp.*, **94**, 61-293, 1957.
1938. — EICHLER (W.). — Lebensraum und Lebensgeschichte der Dahlemer Palmenheuschrecke *Phlugiola dahlemica* n. sp. (Orthopt. Tettigoniid). *Inaug. Diss.*, Neubrandenburg.
1954. — EIGSTI (Ö. J.) et DUSTIN (P. Jr.). — *Colchicine in Agriculture, Medicine Biology and Chemistry*. Iowa State College Press.
1952. — FANKHAUSER (G.). — Nucleocytoplasmic relations in amphibian development. *Int. Rev. Cytol.*, **4**, 165-193. — 1954. — *Interaction of nucleus and cytoplasm in cell growth. Dynamics of growth process*, éd. par Boell (E.). Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 68-94.
1939. — FANKHAUSER (G.) et GRIFFITHS (R. B.). — Induction of triploidy and haploidy in the newt *Triturus viridescens* by cold-treatment of unsegmented eggs. *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.*, **25**, 233.
1952. — FANKHAUSER (G.) et HUMPHREY (R. R.). — The rare occurrence of mitosis without spindle apparatus (« colchicine mitosis ») producing endopolyploidy in embryos of the Axolotl. *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.*, **38**, 1073-1082.
1923. — FAURE (J. C.). — The life history of the brown locust. *Transwall Univ. Coll. Bull.*, n° 4.
1934. — FAVRELLE (M.). — Recherches sur la spermatogenèse des Phasmes. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, suppl. **47**.
1937. — FAVRELLE (M.) et VICHET (G. DE). — Résultats de la fécondation par un mâle d'Algérie des femelles parthénogénétiques françaises du *Bacillus rossii* (Phasmidæ). *C. R. Acad. Sci.*, **226**, 1899-1900. — 1948. — Étude de la descendance de *Bacillus rossii* F. issue de croisements entre les lignées bisexuées nord-africaines et parthénogénétiques françaises. *C. R. Acad. Sci.*, **226**, 1108-1109.
1953. — FISHER (R. A.) et YATES (F.). — *Statistical tables for biological, agricultural and medical research*. 4^e éd., Oliver and Boyd, Edinburgh, London.
1913. — FRYER (J.). — Preliminary note on some experiments with a polymorphic Phasmid. *J. Genetics*, **3**, 107-111.
1953. — GALLIEN (L.). — L'hétéropléidie expérimentale chez les Amphibiens. *Ann. Biol.*, **29**, 5-22.
1946. — GOLDSCHMIDT (E.). — Polyploidy and parthenogenesis in the genus *Saga*. *Nature*, **158**, 587.
1942. — GRIFFITHS (J. T.) et TAUBER (O. E.). — Fecundity, longevity and parthenogenesis of the American Roach *Periplaneta americana* L. *Physiol. Zool.*, **15**, 196-209.

1955. — HADORN (E.). — *Letalfaktoren*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 338 p.
1953. — HAMILTON (A. G.). — Thelytokous parthenogenesis of four generations in the Desert Locust *Schistocerca gregaria* Forsk. (*Acrididae*). *Nature*, **172**, 1153-1154.
1910. HAMMERSCHMIDT (J.). — Beiträge zur Entwicklung der Phasmatiden. *Zeitschr. f. Wiss. Zool.*, **95**, 221-242.
1902. — HANISTCH (R.). — On the parthenogenesis breeding of *Eurycnema herculeana* (Charpentier). *J. Straits As. Soc.*, **33**, 35.
1897. — HEYMONS (R.). — Ueber die Organisation und Entwicklung von *Bacillus rossii* Fabr. *Sitzb. d. Kgl. preuss. Akad. d. W.iss.*, 363-383.
1952. — HUGHES (A.). — *The mitotic cycle*. Butterworths Scientific public., London.
1947. — HUGHES-SCHIRDAER (S.). — The « premetaphase stretch » and kinetochore orientation in Phasmids. *Chromosoma*, **3**, 1-21. — 1947. — Reversion of XO to XY sex chromosomes mechanism in a Phasmid. *Chromosoma*, **3**, 52-65.
1945. — HUSAIN (M. A.) et MATHUR (C. B.). — Studies on *Schistocerca gregaria* Forsk. XIII-Sexual life. *Ind. J. Ent.*, **7**, 89-101.
1934. — KING (R. L.) et SLIFER (E. H.). — Insect development. VIII. Maturation and early development of unfertilized grasshopper eggs. *J. Morph.*, **56**, 603-620.
1930. — LAING (F.). — The cockroach; its life history and how to deal with it. *British Museum (Natural History) Economic series*, n° 12.
1952. — LECOMTE (Ch.) et SMUL (A. DE). — Effet du régime hypoprotéique sur la teneur en acide désoxyribonucléique des noyaux hépatiques chez le Rat jeune. *C. R. Acad. Sci.*, **234**, 1500-1502.
1926. — LEUZINGER (H.), WIESMANN (R.) et LEHMANN (F. E.). — Zur Kenntnis der Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Stabheuschrecke *Carausius morosus*. Gustav Fischer, Jéna.
1939. — LEVAN (A.). — The effect of colchicine on meiosis in *Allium*. *Hereditas*, **25**, 9-26.
1956. — L'HÉLIAS (C.). — Action du complexe rétro-cérébral sur le métabolisme chez le Phasme *Carausius morosus*. Thèse Paris. *Bull. Biol. Fr.-Belg.*, Suppl. 44, 1957.
1950. — LISON (L.). — Étude et réalisation d'un photomètre à l'usage histologique. *Acta anatomica*, **10**, 333-347. — 1952. — *Histochimie et cytochimie animale*. Gauthier-Villars et C^{ie}, Paris.
1951. — LISON (L.) et PASTEELS (J.). — Études histophotométriques sur la teneur en acide désoxyribonucléique des noyaux au cours du développement embryonnaire chez l'Oursin *Paracentrotus lividus*. *Arch. Biol.*, **62**, 1-43. — 1951. — L'évolution de l'acide désoxyribonucléique dans la mitose somatique. *Bull. Ass. Anatomistes Fr.*, **63**, 323-328.
1955. — LISON (L.) et VALERI (V.). — L'erreur dans la détermination histophotométrique de l'acide désoxyribonucléique et la variation individuelle des noyaux en acide désoxyribonucléique. *Chromosoma*, **7**, 497-507.
1941. — MATTHEY (R.). — Étude biologique et cytologique de *Saga pedo* Pallas (Orthoptères Tettigoniidæ). *Rev. Suisse Zool.*, **48**, 91-102. — 1943. — Cytologie de la parthénogenèse chez *Pycnoscelus surinamensis* L. (*Blattariæ*, *Blaberidæ*, *Panchlorinæ*). *Rev. Suisse Zool.* **52**, suppl. 1. — 1946. — Démonstration du caractère géographique de la parthénogenèse de *Saga pedo* Pallas et de sa polyploïdie par comparaison avec les espèces bisexuées, *S. ephippigera* Fisch. et *S. gracilipes* Uvar. *Experientia*, **4**, 308. — 1948. — La formule chromosomiale de *Pycnoscelus surinamensis* L., race bisexuée et race parthénogénétique. Existence probable d'une parthénogenèse diploïde facultative. *Arch. f. Klaus-Stiftung f. Verer.*, *Sozial u. Rassen*, **23**, 517-520. — 1948. — Données nouvelles sur les chromosomes des Tettigoniides et la parthénogenèse de *Saga pedo* Pallas. *Rev. Suisse Zool.*, **55**, 45-56. — 1950. — Les chromosomes de *Saga cappadocica* Werner (Orthoptera, Tettigoniidæ). *Arch. J. Klaus-Stiftung f. Verer. Sozial u. Rassen*, **25**, 44-46.
1951. — MICKEY (G. H.) et BLOUNT (J.). — Somatic polyploidy in *Drosophila melanogaster* treated with cold shock. *Anat. Rec.*, **111**, 466-467.
1950. — MOSCONA (A.). — Blastokinesis and embryonic development in a Phasmid. *Experientia*, **6**, 425-426.
1951. — MULNARD (J.). — La spermatogenèse double d'*Acanthoscelides obtectus* (Coléoptère, Bruchide). *Ann. Soc. Roy. Zool. Belg.*, **82**, 399-445.

1919. — NABOURS (R. K.). — Parthenogenesis and crossing-over in the grouse locust : *Apotettix*. *Amer. Nat.*, **53**, 131-142. — 1925. — Studies of inheritance and evolution in Orthoptera. V. The grouse locust : *Aptotettix eurycephalis* Hancock. *Techn. Bull. Kansas Agric. Exper. Stat.*, **47**, 1-231. — 1929. — The genetics of the *Tettigidae*. *Bibliogr. genet.*, **5**, 27-104. — 1930. — Induced parthenogenesis and homozygosis. *Science*, **72**, 502-503.
1929. — NABOURS (R. K.) et FORSTER (M. E.). — Parthenogenesis and inheritance of colour patterns in the grouse locust *Paratettix texanus* Hancock. *Biol. Bull.*, **56**, 129-155.
1950. — NABOURS (R. K.) et STEBBINS (F. M.). — Cytogenetics of the grouse locust *Apotettix eurycephalus* Hancock. *Techn. Bull. Kansas Agric. Exp. Stat.*, **67**, 1-116. — 1953. — Dimorphism of wing pronotal lengths and teratosis in biparental and partheno-propagation of the grouse locust (*Tettigidae*). *J. exp. Zool.*, **124**, 1-29.
1929. — OHMACHI (F.). — Preliminary note on a case of facultative parthenogenesis in *Loxoblemmus frontalis* Shir. (*Gryllidae*). *Proc. Imp. Acad. Tokyo*, **5**, 367-369.
1952. — OMODEO (P.). — Cariologia dei Lumbricidae. *Caryologia*, **4**, 173-275.
1908. — PANTEL (J.) et SINETY (R. DE). — Sur l'apparition de mâles et d'hermaphrodites dans les pontes parthénogénétiques des Phasmes. *C. R. Acad. Sci.*, **147**, 1358-1360.
1925. — PEHANI (H.). — Die Geschlechtszelle der Phasmen, zugleich ein Beitrag zur Fortpflanzungsbiologie der Phasmen. *Ztschr. wiss. Zool.*, **125**, 167-248.
1915. — PLOTKINOV (V. I.). — Report of the work of the Turkestan Entomological Station.
1949. — POLLISTER (A. W.) et MOSES (M. J.). — A simplified apparatus for photometric analysis and photomicrography. *J. gen. Phys.*, **32**, 567-577.
1947. — POLLISTER (A. W.) et RIS (H.). — Nucleoprotein determination in cytological preparations. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **12**, 147-157.
1949. — RIS (H.) et MIRSKY (A. E.). — Quantitative cytochemical determination of desoxyribonucleic acid with the Feulgen Nuclear reaction. *J. gen. Phys.*, **33**, 125-146.
1930. — ROBERTSON (W. R. B.). — Chromosome studies : V. Diploidy and persistent chromosome relations in partheno-produced *Tettigidae* (*Apotettix eurycephalus* and *Paratettix texanus*). *J. Morph.*, **50**, 209-257. — 1931. — On the origin of partheno-produced males in *Tettigidae* (*Apotettix* and *Paratettix*). *Genetics*, **16**, 353-356.
1954. — ROTH (L. M.) et WILLIS (E. R.). — The reproduction of cockroaches. *Smiths. miscel. coll.*, **122**, n° 12. — 1956. — Parthenogenesis in Cockroaches. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **49**, 195-204.
1909. — SCHIMMER (F.). — Monographie der Gryllodengattung *Myrmecophila*. *Ztschr. wis. Zool.*, **125**, 167-238.
1948. — SEILER (J.). — The origin of parthenogenesis in the pschids. *Proc. VIIIth. Int. Genet. Congr. Stockholm*, 659-660.
1938. — SEILER (J.) et SCHAEFFER (K.). — Der Chromosomenzyklus einer diploid-parthenogenetischen *Solenobia triquetrella*. *Arch. exp. Zellforsch.*, **22**, 206-216. — 1941. — Der Chromosomenzyklus einer diploid-parthenogenetischen *Solenobia triquetrella*. *Rev. suisse Zool.*, **48**, 537-540.
1900. — SINETY (R. DE). — Sur la parthénogénèse des Phasmes. *Bull. Soc. Entom. Fr.*, 195-197. — 1901. — Recherches sur la biologie et l'anatomie des Phasmes. *La Cellule*, **49**, 119-278.
1953. — SMUL (A. DE) et LECOMTE (Ch.). — Sur quelques causes d'erreurs possibles de la méthode histophotométrique. *Arch. Biol.*, **64**, 259-270.
1954. — STAIGER (H.). — Der Chromosomendimorphismus beim Prosobranchier *Purpura lapillus* in Beziehung zur Ökologie der Art. *Chromosoma*, **6**, 419-478.
1950. — SUOMALAINEN (E.). — Parthenogenesis in animals. *Advanc. Genet.*, **3**, 193-253.
1947. — SWANN (M. F.) et MICKEY (G. H.). — Parthenogenetic grasshoppers and their bearing upon polyploidy and sex determination. *Proc. Louisiana Acad. Sci.*, **10**, 78-92.

1929. — SWEZEY (C. H.). — Parthenogenesis in a Phasgonurid, *Xiphidiopsis lita* in Hawaii. *Proc. Hawaiian Entomol. Soc.*, **7**, 279-280.
1953. — SWIFT (H.). — Quantitative aspects of nuclear nucleoproteins. *Intern. Rev. Cytol.*, **2**, 1-76.
1936. — THOMAS (A. J.). — The embryonic development of the stick-insect *Carausius morosus*. *Quart. J. Micr. Sci.*, **78**, 487-511.
1928. — VANDEL (A.). — La parthénogenèse géographique. Contribution à l'étude biologique et cytologique de la parthénogenèse naturelle. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **62**, 164-281. — 1931. — *La parthénogenèse*. Doin, Paris. — 1946. — Le rôle de la polyploidie dans le règne animal. *Arch. J. Klaus. Stiftung f. verer. Sozial u. Rassen*, **21**, 397-410.
1954. — VOY (A.). — Biologie et croissance chez le Phasme femelle (*Clonopsis gallica* Charp.). *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **88**, 101-129.
1952. — WALCKER (P. M. B.) et YATES (H. B.). — Nuclear components of dividing cells. *Proc. Roy. Soc. B.*, **40**, 274-299.
1948. — WHITE (M. J. D.). — The chromosomes of the parthenogenetic mantid, *Brunneria borealis*. *Evolution*, **2**, 90-93. — 1951. — Cytogenetics of Orthopteroid Insects. *Advanc. Genet.*, **4**, 267-330. — 1954. — *Animal cytology and evolution*. 2^e édition. Cambridge University Press.
-

PLANCHE I

PLANCHE I

*Aspect externe de l'embryon au cours de son développement
(Œuf fécondé). Incubation à 27°.*

- Fig. 1. — 5 jours : Première apparition du blastoderme en forme de V.
Fig. 2. — 6 jours : Existence de deux lobes céphaliques et d'un lobe postérieur, ébauche du futur thorax.
Fig. 3. — 7 jours : Allongement du lobe postérieur. Apparition des deux invaginations proctodéale et stomodéale.
Fig. 4. — 8 jours : Apparition des ébauches de pattes. Allongement de la partie céphalique (les lobes céphaliques s'éloignent de l'ébauche thoracique) et de l'ébauche abdominale.
Fig. 5. — 9 jours : Apparition des ébauches des appendices céphaliques. Allongement considérable de l'abdomen et apparition discrète des ébauches des deux premiers appendices abdominaux.
Fig. 6. — 10 jours : Allongement maximum de l'ébauche de l'abdomen et apparition de nouvelles ébauches d'appendices abdominaux (5 à 6 paires). Les appendices thoraciques et à un moindre degré les appendices céphaliques se sont allongés, mais ne présentent pas encore de début de segmentation. Au-dessus de l'invagination stomodéale apparaît nettement l'ébauche impaire du labre.
Fig. 7. — 11 jours : La portion caudale de l'embryon commence à se replier au-dessus de la région moyenne de l'abdomen.
Toutes les figures sont à la même échelle ($\times 55$).
-



1.



2.



3.



4.



5.



6.



7.

PLANCHE II

*Aspect externe de l'embryon au cours de son développement
(Œuf fécondé). Incubation à 27°.*

Fig. 1. — 12 jours : La partie caudale recouvre complètement la région moyenne de l'abdomen empêchant de voir la différenciation des ébauches des derniers appendices abdominaux. Les pattes montrent des débuts d'étranglement, première marque de leur division future en segments. Première apparition d'épaississements latéraux des lobes céphaliques (ébauches des yeux).

Fig. 2. — 13 jours : Début de l'épaississement considérable que va maintenant subir l'embryon. La segmentation des appendices thoraciques et céphaliques est très nette.

Fig. 3. — 14 jours : L'embryon qui continue son développement est maintenant enfoncé dans le vitellus et caché par les annexes embryonnaires qu'il faut retirer pour le mettre en évidence.

Fig. 4. — 15 jours : La morphogenèse se poursuit sans fournir de discontinuité bien apparente. Cependant, l'apparition de la pigmentation des yeux permet encore de distinguer facilement d'après leur aspect extérieur les embryons de cet âge des plus jeunes.

Toutes les figures sont à la même échelle que celles de la planche I ($\times 55$).



1.



2.



3.



4.

PLANCHE III

PLANCHE III

Photographies 1 et 2. — Bandes germinatives d'œufs parthénogénétiques de la souche N_4 , après 11 jours d'incubation ($\times 60$).

Photographies 3 et 4. — Bandes germinatives d'œufs fécondés après 5 jours d'incubation (photo 3) et 6 jours (photo 4). Noter l'aspect plus condensé et plus épais des bandes germinatives des œufs parthénogénétiques (Montages *in toto*, coloration Feulgen) ($\times 60$).

Photographies 5 et 6. — Coupes longitudinales d'œufs vierges de la souche N_4 , après 13 jours d'incubation (photo 5) et 16 jours (photo 6). Noter l'existence d'un énorme tissu interne présentant de place en place des vésicules qui résultent d'un fonctionnement irrégulier des invaginations stomodéale et proctodéale (photo 5) et qui va disparaître complètement par dégénérescence pycnotique des cellules (photo 6) ($\times 130$).

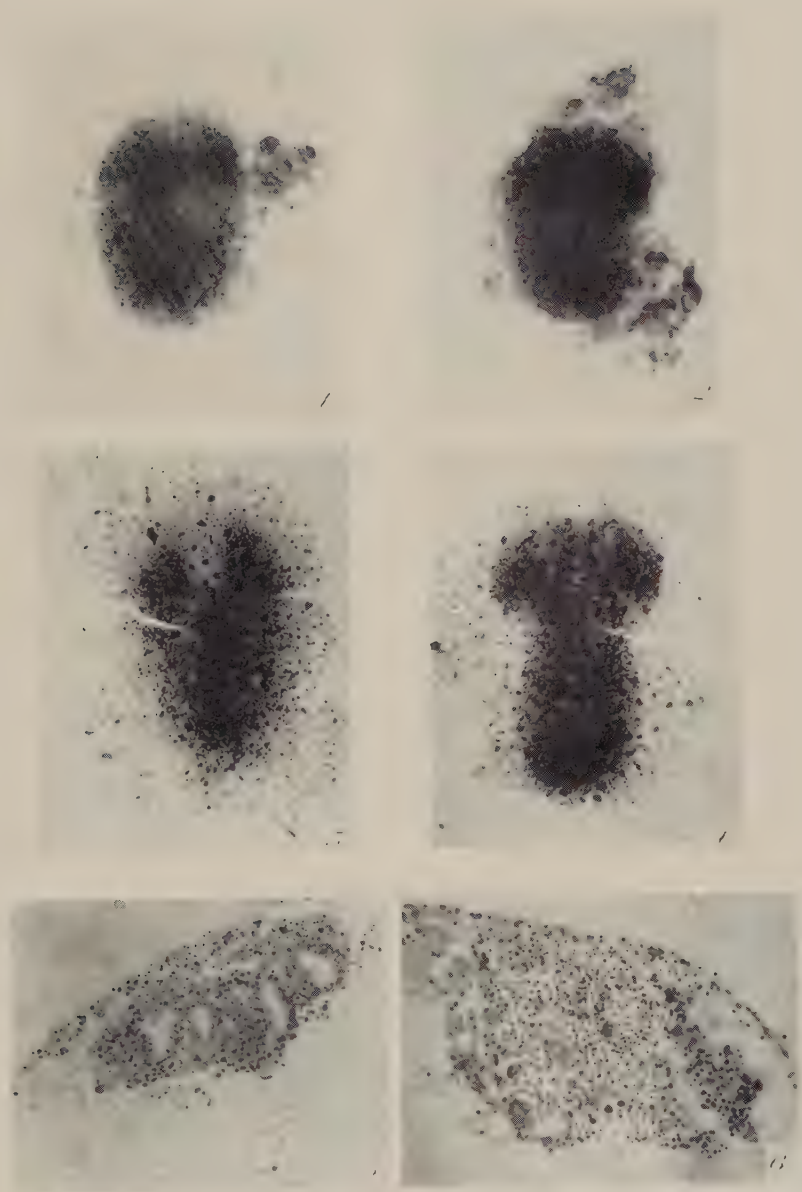
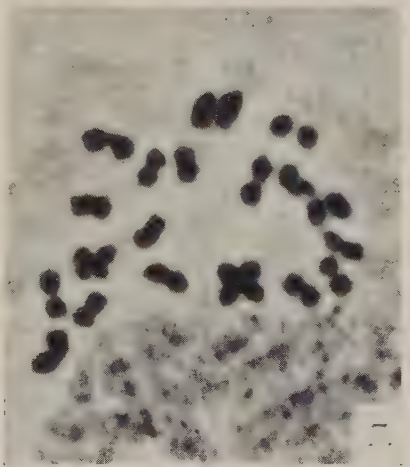
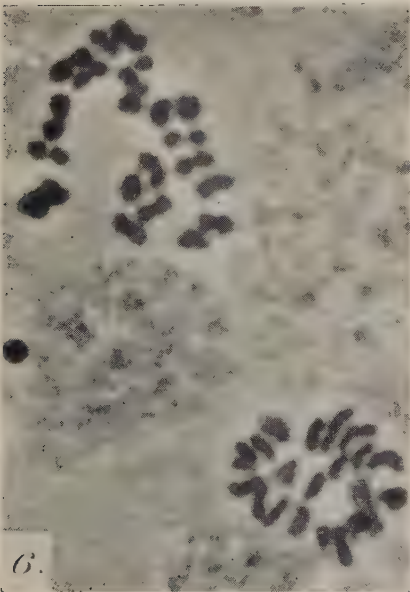
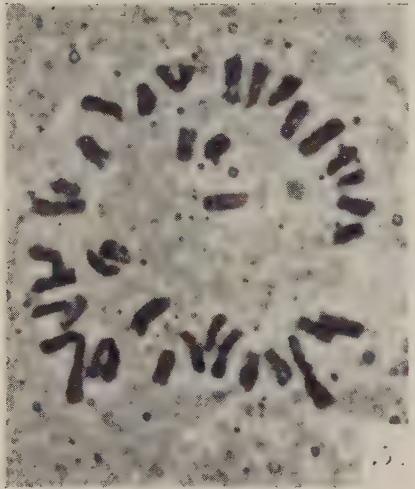
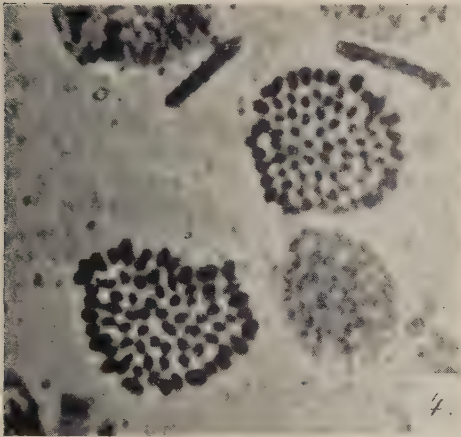
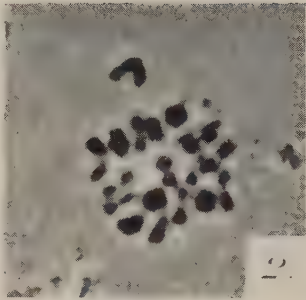
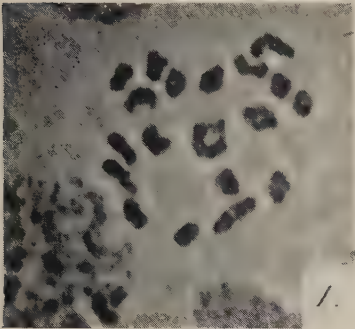


PLANCHE IV

PLANCHE IV

- Photographie 1.* — Diacynèse testiculaire montrant les 18 bivalents et l'hétérochromosome (Écrasement carmin).
- Photographies 2 et 3.* — Métaphases de première division de maturation dans le testicule. Dans la photo 2, la mise au point est faite sur l'hétérochromosome bien visible au-dessus de la plaque. La photo 3 montre nettement les 18 bivalents (Écrasement carmin).
- Photographie 4.* — Métaphases spermatogoniales d'un cyste tétraploïde (Écrasement carmin).
- Photographie 5.* — Métaphase d'un neuroblaste d'un embryon mâle. On distingue facilement l'hétérochromosome (grand V) et les deux autosomes métacentriques (Écrasement carmin).
- Photographie 6.* — Écrasement d'un embryon prélevé sur un œuf vierge de la souche N_4 montrant côte à côte une métaphase normale haploïde et une métaphase bloquée (Carmin acétique).
- Photographie 7.* — Métaphase bloquée. Noter le nombre haploïde de diplochromosomes et la forme en croix caractéristique des deux métacentriques (Écrasement carmin acétique, embryon d'un œuf vierge de la souche N_4).
- Photographies 8 et 9.* — Coupe d'œuf fécondé laissé 45 jours à 18° après la ponte, puis ramené 3 jours à 27°. Noter en profondeur la présence de gros noyaux et de nombreuses pycnoses. La couche périphérique montre quelques gros noyaux et une anaphase, signe du démarrage du développement dans cette zone qui donnera tout le futur embryon (Photo 8 : $\times 130$; photo 9 : $\times 330$).
- Photographie 10.* — Mitose diploïde partiellement bloquée. Noter la présence d'un grand nombre de diplochromosomes et de quelques chromosomes qui ne semblent pas dédoublés, en particulier le grand métacentrique en haut de la figure (Écrasement carmin acétique d'un blastoderme d'œuf fécondé incubé à 18°).
-



DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

La Polyplœdie somatique chez les animaux.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 31 mars 1937.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

J. PÉRÈS.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

JEAN SARRAILH.

DÉPÔT LÉGAL : 1958, 2^e TRIMESTRE, N^o D'ORDRE I.

IMPRIMERIE BARNÉOUD S. A. (31.0566). LAVAL. — N^o 3742. — 6-1958.

